

최 중
연구보고서

쌀겨 단백질 코팅에 의한 쌀의 기능성 및
저장성 향상 기술 개발

Enhancement of Functionalities and
Storabilities of Rice by Coating with Rice
Bran Protein

연 구 기 관
건 국 대 학 교

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “쌀겨 단백질 코팅에 의한 쌀의 기능성 및 저장성 향상 기술 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003 년 8 월 16 일

주관연구기관명 : 건국대학교

총괄연구책임자 : 배 동 호

연 구 원 : 김 경 미

위탁연구기관명 : 식품의약품안전청

위탁연구책임자 : 권 기 성

요 약 문

I. 제 목

쌀겨 단백질 코팅에 의한 쌀의 기능성 및 저장성 향상 기술 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

쌀은 저장성이 가장 약한 곡물 중의 하나로 품질 및 맛의 변화가 심하여 장기보관에 어려움이 있다. 이러한 쌀 품질저하 요인 중의 하나로 유지의 산패로 인한 이취 발생을 들 수가 있는데 이는 곡물의 산소 혹은 수분과의 접촉으로 인하여 발생하는 경우가 많으므로 산소와 수분과의 접촉을 피하는 적절한 저장방법이 요구된다. 현재 쌀의 포장재로는 방습, 방수의 목적으로 포장용 가공지와 합성수지 용기가 주로 사용되고 있으나 환경호르몬 및 환경오염의 문제가 제기되고 있어 단백질을 이용한 식이성 코팅 및 필름으로 식품원료의 산소 및 수분에 대한 접촉을 감소시킴으로서 저장성을 향상시키는 것이 대안으로 생각된다. 쌀 코팅 재료로 사용될 수 있는 단백질은 원료가격이 낮아야하고 밥맛에 이질감을 주지 않아야 하므로 현재 년 50,000 ton이상이 동물사료 등의 용도로 사용되고 있는 탈지강 단백질이 적당하나, 탈지강 단백질의 기능성 및 탈지강 단백질을 이용한 필름의 물리적 특성 등에 대한 연구는 아직 미진한 편이다. 탈지강 단백질에는 물에 용해되지 않는 단백질인 glutenin 및 gliadin의 함량이 높기 때문에 두류 단백질들에 비해서 단백질 추출율 및 물리적 기능성도 낮고 미생물에 의한 오염의 우려도 있어 실제 식품에 적용하기에는 문제가 있다. 식품의 저장성을 향상시키는 방안으로 방부제로서의 bacteriocin의 이용이 검토되고 있으나, 분리 정제 시의 고비용으로 일반적인 식품에 적용하기에는 경제성의 문제가 있다. 또한, 탈지강에는 암 예방에 효과가 있는 isoflavone이 함유되어 있어 이를 지속적으로 섭취할 수 있으므로 국민 건강 증진에 이바지할 수 있다. 그러나 자연상태의 탈지강 내에 존재하는 isoflavone의 함량은 매우 적기 때문에 항암효과를 크게 기

대할 수 있을 만큼의 isoflavone이 함유되기는 어렵다. 그러므로 매일 섭취하는 쌀에 자연 발생하는 isoflavone 이외의 양을 콩으로부터 추출하여 강화할 필요가 있다.

그러므로 본 연구과제에서는 현재 폐기되고 있는 탈지강에 bacteriocin생산 균주를 접종시켜 배양한 후, 단백질과 함께 bacteriocin을 최적 조건에서 추출하고 화학적 modification을 통하여 수분 및 산소 투과율이 낮고 저장성이 높은 코팅제로 가공하며 대두박으로부터 추출된 isoflavone을 강화하여 미립에 코팅함으로써 항암효과와 저장성이 강화된 쌀 가공 기술을 개발하고자 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

미립 코팅제의 수율, 수분·산소 투과율 및 물리적 특성을 개선하기 위하여 탈지강 단백질의 추출을 최적화하였으며, 적절한 가소제를 선택하였고, 화학적 단백질 변형을 통하여 단백질의 기능성을 향상시켰다. 미립 코팅제의 저장성을 향상시키고자 탈지강에서 배양가능한 bacteriocin 생산균주를 선별하여 탈지강 원료에 배양한 후 이로부터 미립 코팅제를 추출함으로써 코팅제의 저장성을 향상시켰으며, bacteriocin의 최대 활성을 위한 코팅제의 가공조건을 최적화함으로써 활성 bacteriocin을 함유한 미립 코팅제를 개발하였다. 대두박에 존재하는 isoflavone을 추출하여 미립 코팅제에 강화함으로써 항암효과를 도모함과 동시에 미립 산화에 의한 쌀의 품질저하를 억제하였다. 이와 같이 bacteriocin과 isoflavone이 함유되고 화학적 modification에 의해 기능성이 강화된 탈지강 단백질 코팅제로 미립을 코팅하고 제조공정을 최적화하여 영양성과 저장성 및 기호성이 강화된 코팅쌀이 생산되었으며 이에 따라 향상된 저장성을 확인하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

탈지강 단백질을 이용한 생분해성 코팅제를 개발하여 산업적으로 응용하기 위

하여 탈지강에 bacteriocin을 배양하고 대두박 isoflavone을 강화하여 이를 쌀에 코팅하여 쌀의 저장기간을 연장하고자 하였다.

먼저 탈지강 단백질 추출의 최적 조건을 조사한 결과 알칼리성 pH 및 10% ethanol 용액에서 succinylation시켰을 때 탈지강 단백질 추출율이 가장 높았으나, succinylation이 필름의 물성을 크게 개선하지 못하였으므로 단백질 변형을 시키지 않고 탈지강에 5배의 10% ethanol용액을 가하여 pH는 9.0로 3시간 추출하여 그 추출액을 탈지강 단백질 필름 제조에 사용하였다. 탈지강 단백질 필름 제조의 최적 조건을 찾기 위하여 가소제 종류와 농도 및 단백질 변형에 따른 필름의 물리화학적 특성을 조사한 결과, 필름의 두께는 단백질 변형을 통해 제조된 필름이 더 두꺼웠고, 수분 투과도는 가소제로 glycerol 2.0%를 첨가한 필름과 sorbitol 2.0%를 첨가한 필름이 가장 낮았다. 또한 단백질 변형에 따른 수분 투과도는 acetic anhydride 1.0%, phosphoric acid 0.1%, succinic anhydride 1.0%첨가한 순으로 낮았다. 단백질에 변형을 가한 필름의 산소 투과도가 단백질에 변형을 가하지 않은 필름보다 모두 낮았다. 단백질 변형 따른 각 필름의 산소 투과도는 acetylation된 필름이 가장 낮았고 그 다음 succinylation, phosphorylation의 순이었다. 탈지강 단백질 필름의 인장강도는 sorbitol을 가소제로 첨가한 필름이 glycerol을 사용한 필름보다 더 컸으며, phosphorylation한 단백질로 제조된 필름이 가장 높은 인장강도를 보였다. 반면, 신장율은 glycerol을 가소제로 첨가한 필름이 조금 더 높았고 단백질 변형에는 큰 영향을 받지 않았다. 대두유 제조 시의 부산물로 얻어지는 대두박으로부터 경제적으로 isoflavone을 추출하여 코팅쌀에 강화하기위하여 대두박으로부터 single methanol extraction으로 isoflavone을 추출한 후, 이 농축액을 탈지강 단백질 추출 시 사용되는 ethanol에 용해시켜(1:5, v:v) 탈지강 단백질 추출용매에 첨가하였다. 그 결과 탈지강 단백질 코팅쌀 1kg에 2.26g의 대두 isoflavone이 함유되는 것으로 나타나 경제적인 방법으로 isoflavone 강화미를 생산할 수 있었다.

단백질 필름의 짧은 저장성을 해결하기위하여 bacteriocin을 적용하였다. 쌀에 존재하며 토양미생물인 *Bacillus* sp.와 *Pseudomonas* sp.을 탈지강에 배양하여 bacteriocin을 생성시킨 결과, 쌀 미생물 및 토양 미생물에 대하여 넓은 항균활성을 갖는 *Pseudomonas putida* 21025를 선별하였고, 이때 생성된 bacteriocin은 50°C 이하의 열에서 활성이 안정하였으며, 핵산과 에탄올의 존재 하에서도 활성이 유지되었다. 또한 이 bacteriocin은 중성 및 알칼리성에서는 2시간동안 활성이 안

정하게 유지되었다. 그러므로, 탈지강 단백질 코팅제에 bacteriocin의 활성을 유지하기 위하여 탈지강에 bacteriocin을 배양한 후, pH를 9.0으로 조절하여 60분 이내로 탈지강에서 단백질을 추출하고, 80℃로 가열한 후 2분간 유지시키는 시점까지의 총 시간을 20분 이내로 하였다. 탈지강 단백질 코팅제의 아미노태 질소함량을 조사한 결과 bacteriocin이 함유된 탈지강 단백질 코팅제가 함유하지 않은 탈지강 단백질 코팅제보다 아미노태 질소함량이 낮은 것으로 나타나 저장성이 증가한 것으로 분석되었다.

Bacteriocin과 대두 isoflavone이 함유된 코팅제를 쌀에 분무하여 1시간 동안 35℃의 pilot-plant규모의 건조기로 건조하여 코팅쌀을 가공하였다. 이러한 코팅 공정을 1~5회 반복하였다. 이때 현미의 코팅은 성공적으로 수행되었으나, 백미에는 checking현상이 발생하여 코팅현미만으로 저장성시험을 수행하였다. 그러나 실험실규모의 실험에서 마이크로파건조를 통하여 checking현상 없이 코팅백미도 가공할 수 있었다. 코팅현미를 8주간 저장하면서 품질변화를 관찰한 결과, 중량감소율은 1회 코팅한 쌀을 제외한 모든 코팅쌀이 코팅하지 않은 쌀 보다 작았으며 pH는 3회 이상 코팅한 쌀이 코팅하지 않은 쌀보다 높았다. 저장 중, 쌀의 산패도를 조사한 결과 과산화물가, 산가, TBA가 모두 코팅쌀이 코팅하지 않은 쌀 보다 낮았으며, 특히 isoflavone을 강화하여 코팅했을 때 쌀의 지방 산패 억제효과가 높았다. 쌀을 저장하는 동안 식미에 영양을 끼치는 전분의 변화를 살펴보기 위해 물결합력, 호화 응집성, 호화특성을 조사하였다. 물결합력은 저장 4주까지 코팅쌀이 코팅하지 않은 쌀보다 높았고, 호화 응집성의 감소율도 3회 이상 코팅한 쌀이 코팅하지 않은 쌀 보다 훨씬 작아 저장 중에 코팅쌀 전분의 품질변화가 상대적으로 작게 나타났다. 코팅쌀과 코팅하지 않은 쌀의 전분호화개시온도는 각각 68℃와 71℃이었으며 최고 점도는 320 BU와 420 BU로, 이 역시 코팅이 쌀 전분의 저장성을 증가시킨 것으로 분석되었다. 저장기간 동안 쌀의 갈변에 영향을 끼치는 색도인 b값이 코팅한 쌀이 코팅하지 않은 쌀보다 높게 나왔으나 이는 탈지강 자체의 색에 의한 영향인 것으로 생각되었다. 물리적 조직감에 있어서는 코팅하지 않는 쌀 보다 코팅한 쌀이 경도가 낮고 부착성이 높은 것으로 나타났다. 저장 4주 후 취반하여 관능검사한 결과, 전반적인 품질 항목에서 코팅쌀이 높은 점수를 받아 기호도도 높은 것으로 나타나 저장 중에 코팅쌀의 품질이 높게 유지됨이 증명되었다.

이와 같이 농산폐기물로 처리되고 있는 탈지강에서 bacteriocin을 생산할 수

있는 *Pseudomonas putida* 21025를 선별배양한 후 단백질을 추출하고 여기에 대두 박으로부터 경제적으로 추출된 대두 isoflavone을 첨가하여 기능성 코팅제를 개발하고, 화학적 modification을 통해 물성을 개선하여 이를 직접적으로 쌀에 코팅함으로써 저장 쌀의 저장성 및 항암 항균 기능을 향상시켰다.

본 연구내용을 산업에 활용하기 위해서는 코팅 현미의 생산에는 기존의 냉·온풍건조장치를 사용하면 되나, 소비자의 기호도에 따라 코팅백미를 생산할 때에는 checking 현상에 의한 품질열화를 억제하기 위하여 새로운 마이크로파 건조장치가 필요하며, 마이크로파 건조조건 및 대량생산을 위한 추가연구가 필요하다. 또한 본 연구의 결과를 기초 자료로 하여 식품의 저장성을 향상시킬 수 있는 새로운 식이성 포장재의 개발도 가능할 것으로 보이며 이에 대한 연구지원도 필요하다.

SUMMARY

I. Title

Enhancement of functionalities and storabilities of rice by coating with rice bran protein

II. Objectives and Importances

Rice is one of the cereals with poor storability causing quality and flavor deteriorations, and thus is difficult in long-term storage. One of the reasons for quality deterioration is off-flavor caused by lipid oxidation mainly due to the contact of cereals with oxygen or moisture. Therefore, cereals should be stored suppressing the contact with oxygen or moisture. Presently papers and polyvinyl are mainly used for rice package to protect from moisture, however, the attempts to replace them with edible protein films are being made because of the environmental pollutions.

The resources of rice-coating protein should be of low cost and familiar with consumers. Consequently, rice bran is considered suitable for rice-coating protein, which is being wasted as animal feeds for about 500,000 ton per year in Korea. However, the researches on the functionalities and film-forming properties of rice bran protein were not widely conducted. Rice bran proteins are mainly composed of water-insoluble glutenin and gliadin, of poor extractability and functional properties, high susceptibility to microbial spoilages, and thus, not widely used as a food ingredient. Bacteriocin is considered suitable to solve this bacterial problem although its utilization for food uses still has economic problem in purification. In addition, rice bran contains small amount of isoflavone and continuous intake of it would be good for health. However, the amount of isoflavone contained in rice bran is

too small to have anticancer effect. Thus, addition of soybean isoflavone to daily-intake rice is necessary.

Therefore, this study was conducted to produce the highly storable and nutraceutical rice coated with rice bran protein containing bacteriocin and soybean isoflavone.

III. Contents and Scope

The conditions for rice bran protein extraction were optimized, the proper plasticizer was selected and rice bran protein was chemically modified to enhance the yield of protein extraction, protein functionalities, and oxygen and moisture permeabilities and physical properties of rice bran protein film. In order to storability of rice bran coat, the bacteriocin-producing bacteria incubatable in defatted rice bran medium was selected and incubated in the defatted rice bran. Rice bran protein was aqueously extracted from the defatted rice bran containing bacteriocin produced previously. The conditions for the protein extraction and film forming processes were optimized to maintain the activity of bacteriocin. Isoflavone present in defatted soy flour was economically extracted and added to the extracted rice bran protein solution to produce rice-coating solution. In addition, the protein in the rice-coating solution was chemically modified to improve the physical properties of coat. Rices were coated with the rice-coating solution to produce coated rice having improved nutraceutical properties and storability, stored for 8 weeks and analyzed for the quality changes.

IV. Results and Suggestion

The highest protein extractability was achieved by using 10% ethanol as a solvent at pH 9 with succinylation of rice bran protein. However, rice bran

protein was aqueously extracted to produce the rice-coating solution, only using 10% ethanol by 5 folds of rice bran amount for 3 hrs without succinylation, because the succinylation could not improve the physical properties of the coat.

In order to assay the properties of coat, rice bran protein film was produced to assay the film properties before the production of coated rice. The films produced with the modified proteins were thicker than that with unmodified protein. The films containing 2% glycerol and 2% sorbitol as a plasticizer, have the lowest moisture permeability, and that containing 1.0% acetic anhydride, 0.1% phosphoric acid and 1.0% succinic anhydride in a sequence. The films produced from chemically modified rice bran proteins showed lower oxygen transmission rates than those produced from unmodified proteins. The acetylated protein film showed the lowest oxygen transmission rate, and succinylated and phosphorylated films in a sequence. The film produced from the phosphorylated rice bran protein had the highest tensile strength and the application of sorbitol as a plasticizer increased the strength more than glycerol. In contrast, glycerol increased % elongation higher than sorbitol, however, the protein modifications could not influence the % elongations of the films.

Isoflavone was extracted from defatted soy flour, the by-product of soybean oil production, by single methanol extraction, in order to fortify the coated rice economically. The isoflavone extract was dissolved in the ethanol(1:5, v:v) which was to be used as a solvent of rice bran protein extraction, and thus, added to the coating solution. When rice was coated with the coating solution containing soy isoflavone, 2.26 g of soy isoflavone was detected in 1 kg of the coated rice.

Bacteriocin was attempted to apply to the films to prolong the shelf lives of protein films. *Pseudomonas putida* 21025 was cultivated from rice bran and identified as a producer of a bacteriocin. The bacteriocin produced by *Pseudomonas putida* 21025 showed a broad spectrum of activity against spoilage and soil bacteria. The activity of the bacteriocin produced by

Pseudomonas putida 21025 was stable throughout the pH ranges of 6–9 for 2 hrs, at the temperature lower than 50°C, and with the presence of ethanol for 3 hrs. Therefore the coating solution was extracted from the *Pseudomonas putida* 21025-incubated defatted rice bran at pH 9.0 within 1 hr, and heated at 80°C for 2min. The bacteriocin was partially purified by 50% ammonium sulfate precipitation followed by subsequent dialysis. Direct detection of the partially purified bacteriocin on SDS-PAGE suggested that it had an apparent molecular mass of about 21.6 kDa. The amount of amino type nitrogen was much lower in the film containing the bacteriocin than that without bacteriocin, implying higher storability of the film containing the bacteriocin.

In order to coat rices, the resulting coating solution containing bacteriocin and soy isoflavone was sprayed on the rices, and dried in the pilot-plant scale drier at 35°C for 1 hrs. These coating processes were repeated 1~5 times to ensure the coating. However, the coated milled rices were checked while the coating of the brown rices were conducted successfully. Thus, only the coated brown rices were produced and investigated for the storabilities. Nevertheless, microwave drying led to successful coating of milled rices without checking in the laboratory-scale experiment.

The quality changes in the coated rices were observed during 8 weeks of storage. The weight losses were smaller in the coated rices, except the rices coated only once, than non-coated rices. The pHs of the rices coated more than 3 times were higher than non-coated rices. The coated rices, especially containing isoflavone, had lower peroxide, acid and TBA values indicating antioxidation effects of coating and isoflavone. Water binding capacity, gel consistency and pasting properties of the rices were investigated to determine the quality changes in rice starch which would influence the taste of rice, during the storage. Water binding capacities of the coated rices were high and the decreases in gel consistencies of the rices coated more than 3 times were smaller than those of non-coated rices, indicating the lower quality deterioration in the starch of the coated rice. The initial pasting temperatures of the coated rice and non-coated rice were 68°C and 71°C, and

the maximum viscosities were 320 BU and 420 BU, respectively, indicating the increased storability of the coated rice. The brown color(b value) of the coated rices were higher than the non-coated rices because of the brown color of the rice bran. In textural property analysis, the coated rices had higher hardnesses and lower adhesivenesses. In the sensory evaluations of cooked rices stored for 4 weeks, overall properties of the coated rices were higher than the non-coated rices implying the higher consumers' acceptances and quality maintenances of the coated rices.

New coated rice having enhanced storability and functionality was successfully developed in this study by coating with developed the coating solution extracted from bacteriocin-incubated rice bran, fortified by isoflavone economically extracted from defatted soy flour and modified chemically. However, microwave drying processes should be additionally developed for the industrial use of this coating technique to protect the milled rice from checking during the drying process although present low-temperature drying method is enough to produce the coated brown rice. This study is also suggesting that more researches are needed to develop the new functional packaging materials utilizing other wasteful protein resources and the techniques developed in this study.

CONTENTS

| | | |
|-------------|--|----|
| Chapter 1 | Epitome of Research | 16 |
| Paragraph 1 | Objectives and Scope | 16 |
| Paragraph 2 | Necessities | 16 |
| Chapter 2 | Present Status | 20 |
| Chapter 3 | Contents and Results | 25 |
| Paragraph 1 | Preface | 25 |
| Paragraph 2 | Materials and Methods | 30 |
| 1. | Extraction of rice bran protein and film formation | 30 |
| 2. | Optimization of isoflavone extraction and analysis | 34 |
| 3. | Utilization of bacteriocin in rice coating | 35 |
| 4. | Storabilities and physicochemical properties of coated rices | 41 |
| Paragraph 3 | Results | 47 |
| 1. | Extraction of rice bran protein and film formation | 47 |
| 2. | Optimization of isoflavone extraction and analysis | 58 |
| 3. | Utilization of bacteriocin in rice coating | 60 |
| 4. | Storabilities and physicochemical properties of coated rices | 71 |
| Chapter 4 | Attainment and Contribution | 86 |
| Chapter 5 | Application Plan | 93 |

| | | |
|-------------|---|----|
| Paragraph 1 | Necessities for Additional Researches | 93 |
| Paragraph 2 | Applications to Other Research | 93 |
| Paragraph 3 | Industrialization Plan | 95 |
| Chapter 6 | Collected Technical Information | 96 |
| Chapter 7 | References | 99 |

목 차

| | | |
|-------|--|----|
| 제 1 장 | 연구개발과제의 개요 | 16 |
| 제 1 절 | 연구개발의 목적 및 범위 | 16 |
| 제 2 절 | 연구개발의 필요성 | 16 |
| 제 2 장 | 국내외 기술개발 현황 | 20 |
| 제 3 장 | 연구개발수행 내용 및 결과 | 25 |
| 제 1 절 | 서 론 | 25 |
| 제 2 절 | 실험재료 및 방법 | 30 |
| 1. | 탈지강 단백질 추출 및 필름제조 | 30 |
| 2. | 대두박으로부터 isoflavone 추출의 최적화 및 분석 | 34 |
| 3. | Bacteriocin을 이용한 탈지강 단백질 코팅제의 저장성 향상 | 35 |
| 4. | 탈지강 단백질 코팅제로 코팅된 쌀의 저장성 및 이화학적 성질 | 41 |
| 제 3 절 | 결 과 | 47 |
| 1. | 탈지강 단백질 추출 및 필름제조 | 47 |
| 2. | 대두박으로부터 isoflavone 추출의 최적화 및 분석 | 58 |
| 3. | Bacteriocin을 이용한 탈지강 단백질 코팅제의 저장성 향상 | 60 |
| 4. | 탈지강 단백질 코팅제로 코팅한 쌀의 저장성 및 이화학적 성질 | 71 |
| 제 4 장 | 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 | 86 |
| 제 5 장 | 연구개발결과의 활용계획 | 93 |

| | | |
|-------|-----------------------------|----|
| 제 1 절 | 추가연구의 필요성 | 93 |
| 제 2 절 | 타 연구에의 응용 | 93 |
| 제 3 절 | 기업화 추진방안 | 95 |
| 제 6 장 | 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 | 96 |
| 제 7 장 | 참고문헌 | 99 |

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 범위

본 연구과제에서는 현재 폐기되고 있는 탈지강 단백질을 최적 조건에서 추출하여 수분 및 산소 투과율이 낮고 저장성이 높은 코팅제로 가공하고 대두박으로부터 추출된 항암성분으로 강화하여 미립에 코팅함으로써 항암효과와 저장성이 강화된 쌀 가공 기술을 개발하는 데 그 목적이 있다.

미립 코팅제의 수율, 수분·산소 투과율 및 물리적 특성을 개선하기 위하여 탈지강 단백질의 추출을 최적화하였으며, 적절한 가소제를 선택하였고, 화학적 단백질 변형을 통하여 단백질의 기능성을 향상시키고자 하였다.

미립코팅제의 저장성을 향상시키고자 탈지강에서 배양가능한 bacteriocin 생산균주를 선별하여 탈지강 원료에 배양한 후 이로부터 미립코팅제를 추출함으로써 코팅제의 저장성을 향상시키고자 하였으며, bacteriocin의 최대 활성을 위한 코팅제의 가공조건을 최적화함으로써 활성 bacteriocin을 함유한 미립 코팅제를 개발하고자 하였다.

대두박에 존재하는 isoflavone을 추출하여 미립 코팅제에 강화함으로써 항암효과를 도모함과 동시에 미립 산화에 의한 쌀의 품질저하를 억제코자 하였다.

이와 같이 bacteriocin과 isoflavone이 함유된 탈지강 단백질 코팅제로 미립을 코팅하여 영양성과 저장성 및 기호성이 강화된 코팅쌀을 생산하고자 하였다.

제 2 절 연구개발의 필요성

과거 세계적인 식량부족으로 어느 정도 한계에 이른 생산량 증가 위주의 접근 방식 보다는 생산후 손실의 감소를 통한 식량의 간접적 증산을 기할 수 있는 기술의 개발이 강력히 요구된다. 우리 나라의 저장 중 곡물 손실량은 정확한 통계는 없으나, 약 11.5%로 추정하고 있어 연간 약 876,000 ton에 달하고 있으므로 이를 감소시키는 기술이 생산량을 증가시키는 기술 못지않게 중요하다. 곡물품위가 저하된 간접적 손실은 양적 손실로 이행되어 경제적 손실로 이어질 뿐 아니라 식용이 불가능하

게 되어 시장에서 받아들여지지 않으면 사회적 문제로까지 이어지게 된다.

이중 **쌀은 저장성이 가장 약한 곡물** 중의 하나로 품질 및 맛의 변화가 심하여 장기보관의 어려움이 있다. 이러한 쌀 품질저하 요인 중의 하나로 유지의 산패로 인한 이취 발생을 들 수가 있는데 이는 곡물의 산소 혹은 수분과의 접촉으로 인하여 발생하는 경우가 많으므로 **산소와 수분과의 접촉을 피하는 적절한 저장방법**이 요구된다.

현재 쌀의 포장재로는 방습, 방수의 목적으로 포장용 가공지와 합성수지 용기가 주로 사용되고 있으나 **환경호르몬 및 환경오염의 문제**가 제기되고 있다.

이러한 포장용 가공지와 합성수지 용기의 환경호르몬 및 환경오염의 문제를 해결하기 위해서는 **단백질을 이용한 식이성 코팅 및 필름**으로 식품원료의 산소 및 수분에 대한 접촉을 감소시킴으로서 저장성을 향상시키는 것이 대안으로 생각된다. 현재, 식이성 단백질 코팅제로 주목받고 있는 원료단백질은 주로 콜라겐, 밀단백질, 대두단백질, 옥수수단백질 등이다.

쌀 코팅 재료로 사용될 단백질은 원료가격이 낮아야하고 밥맛에 이질감을 주지 않아야 하므로 현재 동물사료 등의 용도로 사용되고 있는 **탈지강 단백질**이 적합하나, 탈지강 단백질의 기능성 및 탈지강 단백질을 이용한 필름의 물리적 특성 등에 대한 연구는 아직 미진한 편이어서 이에 대한 연구가 선행되어야 한다. 현재 쌀을 도정한 후, 생산되는 미강의 양은 일년에 500,000 ton이상이며, 미강은 소화성이 좋고 아미노산 조성 또한 바람직한 양질의 단백질을 전체함량의 15%정도 지니고 있어 일년에 버려지거나 동물 사료로 사용되는 미강 단백질량은 50,000 ton이상이 된다. 그러므로 이러한 미강 단백질의 추출·활용이 필요하다. 생산되는 미강의 극히 일부는 주류생산에 이용되고 있으나, 이 때 미강에 함유된 단백질은 주류의 풍미에 악영향을 미치므로 오히려 제거해 버려야하는 성분으로 취급되기도 하므로, 이러한 미강 단백질을 추출하여 쌀 코팅 재료로 사용함으로써 쌀의 품질을 유지할 수 있으며 단백질의 보강도 도모할 수 있다. 그러므로, 본 연구에서는 폐자원을 이용하여 식품원료를 개발함으로써 고품질의 안전식품생산기술의 개발함과 동시에, 수입의존도가 높은 단백질 원의 대체효과를 기대할 수 있으며 외화낭비도 줄일 수 있을 것으로 생각되고, 코팅제 가공 후에 발생하는 폐기물에는 탄수화물 성분은 다량함유되어 있으므로 다시 식품 혹은 사료 소재화함으로써 원천적인 폐기물발생을 억제하여 환경오염을 줄일 수 있다.

그러나, 탈지강 (미강으로 부터 미강유를 압착추출하고 남은 부산물) 단백질에는

물에 용해되지 않는 단백질인 glutenin 및 gliadin의 함량이 높기 때문에 두류 단백질들에 비해서 **단백질 추출율 및 물리적 기능성이 낮아** 실제 식품에 적용하기에는 문제가 있어 **이에 대한 어떠한 해결책**이 마련되어 실제 식품원료로 이용하려는 노력이 시급하다.

또한, 단백질 및 다당류를 이용한 생분해성 코팅 및 필름의 산소 및 수분 투과성과 물리적 특성을 개선한 기능성 필름에 대한 연구가 일부 수행되어 왔으나 식품원료의 산소 및 수분, 미생물에 대한 접촉을 물리적으로 감소시킴으로서 저장성을 향상시키는 수준에 머물러 있으며 현재 이것만으로는 쌀의 저장성과 품질을 보장할 수 없다. 식품의 저장성을 향상시키는 방안으로 방부제로서의 **bacteriocin의 이용**이 검토되고 있으나, 분리 정제 시의 고비용으로 일반적인 식품에 적용하기에는 **경제성 문제**가 있다. Bacteriocin은 미생물이 생산하는 천연의 무독성 방부제로 주목 받고 있는 항균성 단백질로 인체에 섭취되면 소화기관의 단백질 가수분해 효소에 의해 분해됨으로써 인체에 무독하고 잔류성이 없으며 기존의 항생제가 미생물의 2차 대사산물인데 비해 유전자로부터 직접 생합성되므로 직접적인 유전자조작 등에 의한 생물공학적 응용이 쉽다는 측면에서 기존의 화학적 보존재를 대처할 수 있는 새로운 생물학적 보조제로서 식품 등의 천연방부제로서의 효용성이 증대되고 있어 이를 **경제적인 방법으로 미립 코팅제에 적용**하면 코팅제의 저장성을 개선할 수 있을 것으로 생각된다.

또한, 탈지장 단백질로 코팅된 쌀은 단백질 성분만이 강화될 뿐 아니라, 암 예방에 효과가 있는 isoflavone 또한, 탈지장 단백질과 함께 코팅성분으로 이행될 것으로 추정되어 이를 지속적으로 섭취할 수 있으므로 국민 건강 증진에 이바지할 수 있다. 그러나, 자연상태의 쌀겨 내에 존재하는 isoflavone의 함량은 매우 적기 때문에 (ex: 0.5~0.8mg/g of rice bran) 항암효과를 크게 기대할 수 있을 만큼의 isoflavone이 함유되기는 어렵다. 그러므로, **코팅쌀에 자연 발생하는 isoflavone 이외의 양을 콩으로부터 추출하여 강화**할 필요가 있다. 콩의 isoflavone에는 genistin과 daidzein이 함유되어 있으며 유방암, 직장암, 전립선암의 억제 및 심혈관과 골다공증에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 현재 콩 중에 함유되어 있는 isoflavone의 화학구조 규명 및 정량분석, 동물실험, 세포배양 실험 등을 통하여 각종 생리활성을 규명하였으며 체내에서의 isoflavone의 대사과정 등에 대한 보고가 발표된 바 있고, 콩 가공식품 중에 함유된 isoflavone의 함량과 조리 시의 함량변화와 기능적 특성 및 분리, 정제 방법이 연구된 바 있다. Isoflavone의 함량은 콩의 품종과 부위

에 따라 차이가 있는 것으로 보고되고 있으며, 콩의 부위를 배축, 배유, 껍질로 나누었을 때, 배축에는 3.0~5.7mg/g 정도로 가장 많고, 배유에는 배축부위의 약 1/20~1/50 정도 함유되어 있으며 껍질에는 거의 존재하지 않는 것으로 나타났다. 그러므로, 전체 콩 중에서 배축이 차지하는 중량은 1%미만이지만 주로 배축 부위에 집중 분포되어 있다고 할 수 있다. 현재 콩의 배축 부위는 콩기름 제조 시, 탈피과정에서 껍질과 함께 분리되어 버려지고 있으며, 콩기름 추출후의 부산물인 탈지대두박은 동물사료로 이용되고 있다. 이들 부산물에는 isoflavone과 함께 양질의 단백질과 올리고당 등이 잔존하고 있다. 따라서 콩기름 제조 시, 버려지고 있는 배축과 탈지 대두박으로부터 isoflavone을 추출하여 isoflavone 강화미를 만들어 탈지강 단백질로 코팅된 쌀의 항산화효과 추구함과 동시에, 암 예방에 효과가 있는 쌀겨 내에 존재하는 isoflavone과 대두로부터 추출, 강화된 isoflavone을 지속적으로 섭취할 수 있으므로 국민 건강 증진에 이바지할 수 있다. 국민의 암 예방, 건강증진을 도모할 수 있으며 고부가가치를 지닌 식품이 될 것이다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 단백질 필름 및 코팅분야

식이성 코팅은 식품포장의 개봉 후에 흡습, 탈습, 산소와의 접촉, 향기성분의 손실을 막아 식품 품질을 유지하기 위한 목적으로 최근 많이 연구, 개발되어 왔다. 또한, 식이성 혹은 생분해성 코팅 및 포장재는 일반 포장재의 남용도 감소시킴으로서 환경보호에 큰 도움이 될 가능성도 제시된 바 있다. 여기서는 단백질 포장 및 코팅 재료별로 현재 개발되어 온 기술들을 요약하면 다음과 같다.

가. 콜라겐 필름 및 코팅

콜라겐 필름은 상업적으로 가장 널리 사용되고 있는 필름 중의 하나로 소시지 및 햄의 피막제로 사용되고 있다. 이 피막제는 소시지의 형태를 물리적으로 보형할 뿐만 아니라, 산소 및 수분의 이행도 감소시켜주며, 유지의 산패도 억제한다고 보고된 바 있다.

나. 젤라틴 필름 및 코팅

젤라틴 필름은 수분투과율이 높기 때문에 저 수분 혹은 유지 식품이나 의약품의 캡슐 용도로 많이 사용되고 있으며, 현재, lactic acid 혹은 tannic acid를 결합하여 수분투과율을 감소시킴으로서 과일 및 육류의 산소, 수분, 유지의 이동을 제한하여 산패를 저하시키는 용도로 사용하기 위한 연구가 진행 중이다.

다. 옥수수 Zein 필름 및 코팅

콜라겐과 젤라틴 필름과 함께 옥수수 Zein 필름은 우수한 산소, 수분, 유지 차단 효과가 있어서 상업적으로 다양한 식품의 코팅제로 사용되고 있다. 옥수수 Zein 코팅은 아몬드, 땅콩, 호두, 밤 등에 적용되어 제품품질을 유지하는데 사용되고 있으며, 건조 과일 및 채소 식품에서는 수분 흡수 및 산화를 방지하는 목적으로 사용되고 있고, 최근에는 종이를 옥수수 Zein으로 코팅하여 식품 포장재로 사용하려는 시도가 이루어지고 있다.

라. 밀 Gluten 필름 및 코팅

소시지 제조 시, 밀 Gluten 필름으로 콜라젠 필름을 대체하려는 연구가 진행된 바 있으며, 땅콩에 소금과 향기성분을 부착시키기 위하여 밀 Gluten 코팅이 연구된 바 있으나, 실용화되지는 않았다.

마. 대두 단백질 필름 및 코팅

대두 단백질 필름에 관한 연구는 국외뿐만이 아니라 국내에서도 비교적 활발히 이루어지고 있다. 특히, 건포도, 건조 견과류 식품 및 달걀 등의 코팅제로 제안된 바 있으나, 수분이동 차단에 별 효과가 없어서 실용화되지는 않고 있다.

바. 우유 Casein 필름 및 코팅

글리세린을 가소제로 사용한 우유 Casein 필름은 투명도와 유연성은 우수하였으나, 수분차단효과는 없었으며, lactic acid 혹은 tannic acid를 결합시킴으로서 수분차단효과가 향상되었다고 보고된 바 있다. 카제인과 유지의 유화액을 당근과 zucchini에 코팅함으로써 수분의 손실을 효과적으로 억제한 연구가 진행된 바 있으며, 카제인과 acetylated monoglyceride의 유화액을 냉동 연어에 코팅함으로써 수분의 손실을 억제한 연구가 진행된 바 있으나, 지방산화 억제효과는 없었다는 연구보고가 있었다.

사. 유청 단백질 필름 및 코팅

유청 단백질 필름과 코팅은 산소이동의 차단효과는 우수한 반면 수분이동의 차단효과는 별로 나타나지 않았다. 그러나, 상대습도, 가소제의 종류 및 양에 따라 수분이동의 차단효과는 크게 영향을 받는 것으로 나타으며, 특히 왁스와 fatty acid를 결합시켰을 때, 수분이동의 차단효과가 크게 향상된다고 하였다. 현재, 유청 단백질 필름 및 코팅이 실용화된 바는 없으나, 볶은 땅콩의 산소 흡수율과 산패도를 현저히 감소시킨다는 연구보고는 이루어진 바 있다.

이와 같이 단백질을 이용한 필름 및 코팅 연구가 진행되어 미생물의 오염과 산소와의 접촉으로 인한 내용물의 산패를 물리적으로 일부 차단하는 효과가 있는 것으로 보고되고 있으나 그 **안전성 및 물리적 특성은 기존 포장용 가공지와 합성수지 용기에 미치지 못하는 것으로 보고되고 있다.**

2. 기능성 필름 및 코팅분야

단백질 및 다당류를 이용한 생분해성 코팅 및 필름의 산소 및 수분 투과성과 물리적 특성을 개선한 **기능성 필름**에 대한 연구가 일부 수행되어 왔으나 미생물에 대해서는 오염억제 수준에 머물고 있고, 특히 **곡물의 유통기한 연장**을 목적으로 하는 단백질 필름 연구는 이루어진 바 없다.

가. 슈크로우스 폴리에스터의 일종인 Prolong을 조나단과 후지 사과에 처리하여 저장 중의 품질변화와 에틸렌게스의 생성에 관한 연구가 수행되었다.

나. Semperfresh를 후지사과 및 신고배의 표피에 처리하였으며 사과의 경우 처리구는 저장중 품질의 변화가 무처리구에 비해 현저히 감소되었으며, 배의 경우 처리구는 저장 중 호흡률이 무처리구에 비해 증가하였다.

다. 키토산을 함유한 다당류 필름이 개발되어 필름의 산소 및 수분 투과성과 물리적 특성을 향상시킨 보고가 있었으나 항균효과를 보완할 필요가 있다.

라. 생분해성 필름의 원료에 chemical modification을 가하여 물리적 특성을 향상시킨 보고가 있었으나 탈지강 단백질을 이용한 연구는 이루어진 바 없다.

3. Bacteriocin분야

식품의 **저장성을 향상**시키는 방안으로 방부제로서의 **bacteriocin** 이용이 검토되고 있으나, 분리 정제 시의 고비용으로 일반적인 식품에 적용하기에는 **경제성 문제**가 있어 현재 식품, 특히, 코팅 등의 포장재에는 이용된 바 없다.

가. Bacteriocin은 미생물이 생산하는 천연의 무독성 방부제로 주목받고 있는 항균성 단백질로 인체에 섭취되면 소화기관의 단백질 가수분해 효소에 의해 분해됨으로써 인체에 무독하고 잔류성이 없으며 기존의 항생제가 미생물의 2차 대사산물인데 비해 유전자로부터 직접 생합성되므로 직접적인 유전자조작 등에 의한 생물공학적인 응용이 쉽다는 측면에서 기존의 화학적 보존제를 대체할 수 있는 새로운 생물학적 보조제로서 식품 등의 천연방부제로서의 효용성이 증대되고 있다.

나. 식물병원균을 방제하기 위하여 사용하는 화학농약은 그 사용범위가 상당히 넓으나 인체에 유해하고 저항성을 가진 병원균이 증가하고 있어서 사용 숙주범위는 좁지만 이러한 결점을 보완할 수 있는 생물학적 방부제로서의 bacteriocin 연구가 보고되어 있다.

다. 비교적 고온에서 불활성화되지 않으며 광범위한 pH에서 안정성을 가지며 무독, 무색, 무취이므로 화학합성방부제를 대체할 수 있는 천연방부제로서의 광범위한 용도개발이 기대된다.

라. 식품산업에 응용되고 있는 bacteriocin은 Nisin으로 유제품 및 육류의 품질 보존, 통조림 제품의 살균 등에 많이 이용되고 있고 이미 구미에서는 긍정적으로 인정한 사례가 있다.

4. Isoflavone분야

유지를 많이 함유하고 있는 식품은 유지가 공기 중의 산소와 쉽게 반응, 분해되어 유지산패에 의한 이취, 산패취 등의 문제로 인하여 가공 식품의 품질을 저하시키고 또한 산패 과정 중 생성된 과산화물은 인체의 노화 및 발암으로 진행될 수 있기 때문에 산소의 차단 외에 가공 식품의 산화를 보다 적극적으로 감소시킬 수 있는 저장 및 포장의 개선이 요구된다. 쌀 또한 저장 중에 산소와의 접촉으로 유지성분이 산화되어 풍미에 악영향을 미치게 된다. 식품의 산화방지를 위해 사용되고 있는 합성 항산화제는 독성 등으로 인해 인체 유해성 및 용도의 한계 등의 문제로 인하여 가공 식품의 사용에 제한을 받고 있다. 따라서 보다 안전하고 효과적인 항산화제를 각종 천연물 및 식용 source로부터 탐색하는 연구가 지속적으로 활발히 연구되고 있다. 식물성 자원에 널리 분포되어 있는 polyphenol, carotenoid, tocopherol, flavonoid계 물질은 대표적인 천연 항산화제이다.

이 중, 콩의 isoflavone에는 genistin과 daidzein이 함유되어 있으며 유방암, 직장암, 전립선암의 억제 및 심혈관과 골다공증에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 현재 콩 중에 함유되어 있는 isoflavone의 화학구조 규명 및 정량분석, 동물실험, 세포배양 실험 등을 통하여 각종 생리활성을 규명하였으며 체내에서의 isoflavone의 대사과정 등에 대한 보고가 발표된 바 있으며, 콩 가공식품 중에 함유된 isoflavone의 함량과 조리 시의 함량변화와 기능적 특성 및 분리, 정제 방법이 연구된 바 있다.

현재, isoflavone은 콩으로부터 분리, 정제하여 미국에서는 7~8%, 일본에서는 30% 정도의 순도를 가진 tablet 혹은 분말형태의 제품이 판매되고 있으나, 그 제조기술에 대하여는 단백질과 지방질 제거 및 용매추출 하였다는 것 외에는 잘 알려져 있지 않고, 국내에서도 그 분리, 정제 방법이 연구된 바 있으나, 대량생산을 위한 제조조건은 연구된 바 없다. 또한, 본 연구개발과 직접 관련되어 항암성분이 강화된 새로운 암 예방 식품을 개발하거나 이를 생산하기 위한 발표는 현재까지 보고된 바 없으며 다만 isoflavone과 관련된 암 예방효과에 관한 연구 결과는 isoflavone과 human natural killer cell의 관계 연구, isoflavone의 molecular mechanism 연구, 유방암 감소와 관련된 hormone에 대한 isoflavone의 영향 연구, isoflavone의 암 예방 효과는 estrogen 합성의 modulation과 관계, isoflavone의 암 예방에 사용 가능성, isoflavone과 폐암 예방, 암 예방을 위한 phytochemicals의 함량, 암 예방을 위한 isoflavone의 함량, isoflavone과 폐암 예방의 관계 연구, 암에 대한 노출 억제를 위한 isoflavone의 필요량, flavonoids의 암 예방 효과, 유방암과 isoflavone의 관계 등으로 비교적 많은 편이다. 또한, 식품 내에 함유된 isoflavone 관련 항암물질에 관한 연구로는, 식품에 함유된 식물 에스트로젠의 연구, 콩의 복용과 발암 위험도와 관계 연구, 아시아인의 음식문화가 암 예방에 미치는 영향, 콩 관련 제품에 포함된 isoflavone의 함유량, 차 함유 polyphenols의 암 예방 효과 등이 있으나 isoflavone을 식품에 직접 강화하여 기능성을 부과한 예는 드물다.

항산화제를 첨가한 단백질 edible-coating은 가공 식품 포장의 개봉 후에 흡습, 탈습, 산소와의 접촉, 향기성분의 손실을 막음으로써 가공 식품의 품질을 유지하기 위한 목적으로 현재 연구·개발되고 있는 추세이지만, 아직 시작 단계이며 실용화된 바는 없다.

그러므로, 현재 단백질 코팅 및 chemical modification에 대해서는 어느 정도 세계적인 연구가 진행된 바 있으나, 쌀 소비국가가 많지 않은 이유에서 탈지강 단백질의 modification과 코팅에 대한 연구는 비교적 이루어져 있지 않고 있다. 한편, isoflavone과 bacteriocin을 식품에 적용하여 영양강화와 미생물오염 및 식품성분 산화의 억제를 도모한 연구는 시작 단계이며, 특히 이를 코팅제에 적용하여 곡물의 저장성 및 영양성을 향상시킨 연구는 최초라고 할 수 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 서 론

쌀의 우리나라뿐만 아니라 동남아시아를 비롯한 세계 여러 나라의 주요한 식량 자원이다. 우리나라의 경우 쌀을 주식으로 이용하고 있으나 국민 소득의 증가와 식생활의 변화로 쌀의 소비가 계속해서 감소하는 추세에 있으며 최근 계속되는 풍작으로 인해 쌀의 생산량이 늘어 매년 쌀의 재고가 늘고 있는 실정이다. 그로 인한 쌀의 과잉재고에 따른 보관창고의 부족뿐 아니라 기존 창고의 노후와 관리 소홀로 인해 보관미의 변질 및 병충해에 대한 심각한 문제점이 발생하고 있다. 현재 우리나라의 쌀 저장형태는 대부분 현미상태로 상온저장이며, 정조 상태로의 저장이 미질 면에서 가장 효과적이나 취반용으로서의 저장한계는 3년으로 추정하고 있다(윤인하 & 이병영, 1990). 쌀은 저장 중 물리화학적 변화로 노화가 시작되고(Barber, 1972), 이에 따라 취반미의 품질이 저하되고, 가공적성이 감소되며, 식미, 영양가, 상업적 가치 등이 떨어지게 된다. 쌀의 노화는 지방, 단백질, 전분을 중심으로 그 기작이 제안되는데 특히 저장 중 지방질로부터 생산된 지방산이 아밀로우스와 복합체를 형성하여 전분의 용해도와 팽윤력을 감소시키고, 더 나아가 불포화 지방산의 자동 산화에 의해 형성된 지질 산화물과 단백질과의 상호 작용하여 단백질 용해도 또한 감소시킨다(Shibuya et al., 1974; Shin et al., 1985; Moritaka et al., 1971). 이러한 이유 때문에 저장에 의해 유리 지방산과 과산화물가가 증가할 뿐 아니라 고미취의 주 성분은 카르보닐 화합물이 증가되는 것으로 알려져 있다(Moritaka et al., 1971, Yasumatsu et al., 1965). 최근 들어 쌀의 품질저하를 방지하기 위하여 저온저장에 대한 관심이 증대되고 있으며 일본에서는 저온저장미가 유통되고 있다(이세은 등, 2001). 그러나 특수 저장된 저온 저장미의 가격이 50%이상의 가격차를 보일뿐 아니라 대개 쌀 포장 후 판매장의 보관온도가 20~25℃ 범위로 비교적 높은 온도에 방치되어 있어서 유통기간이 경과하면서 쌀의 품질이 저하된다.

이러한 곡물과 건과류 식품의 수분흡수 및 산화를 방지하기 위한 목적으로 사용되어지고 있는 식이성 코팅제는 식품포장의 개봉 후 흡습, 탈습, 산소와의 접촉,

향기성분의 손실을 막아 식품의 품질을 유지하기 위한 목적으로 최근 많이 연구 개발되고 있으며 식이성 혹은 생분해성 코팅 및 포장재는 일반포장재의 남용도 감소시킴으로써 환경보호에 큰 도움이 될 가능성도 제시된 바 있다. 식이성, 생분해성 필름은 식품 표면을 코팅하거나, 식품의 내부에 사용하여 식품을 외부의 충격으로부터 보호하고 식품의 저장 수명을 증가시키는 기능을 한다. 이러한 식이성 필름은 기존의 석유화학 고분자 보다 쉽게 분해되며 또한 포장 재질에 향미, 색소, 감미료 등의 성분을 첨가하여 내용물에 관능적 특성을 부여하여, 콩류 및 과채류 등을 개별적으로 포장할 수 있는 장점이 있다(Gennadios and Weier, 1990; Gennadios et al., 1993). 식이성 필름의 식품응용에 대한 연구로 (Biquet and Labuza, 1988 이외) 과실과 냉동식품에 대한 식이성 필름의 응용이 있으며, 기체 및 용질 차단막으로써 과실과 채소 및 가공식품에 사용되기도 하였다. 또한 찹쌀떡에 식이성 필름을 코팅함으로써 저장 중 수분 이동에 의한 중량 감소를 줄일 수 있다는 연구도 있다(박상규 등 2001). 이렇게 식이성 필름을 신선한 과채류나 곡물, 다른 가공식품에 적용시켰을 때 식이성 필름의 수분 및 산소 차단 성질에 기인하여 식품의 품질 향상 및 상품의 고급화를 이룰 수 있으리라 기대하고 있다. 이러한 식이성 필름은 단백질, 다당류 및 지질을 주원료로 하며 특히 단백질 원료로는 collagen(Liberman and Gilbert, 1973), casein (Avena-Bustillos and Krochta 1993), whey protein(McHugh et al., 1994), soy protein(Brandenburg et al., 1993), wheat protein(Gennadios et al., 1993, Heraid et al., 1995) 등이 소재로 이용되고 있다. 이러한 원료로 제조한 식이성 필름은 가공식품의 저장 수명을 연장하기 위한 목적으로 물질 이동 차단 수단 및 외부 충격에 의한 보호 수단으로써 식품 표면을 코팅하거나 겹싸기(wrapping)에 이용되었다(Gennadios and Weier, 1990; Kester and Fennema, 1986; Gilbert, 1986). 옥수수 단백질인 corn zein의 경우 땅콩류의 식품표면에 코팅함으로써 산소 차단막으로 사용되었으며(Cosler, 1958), 기름이 다량 함유된 즉석식품에 겹싸기(wrapping)를 함으로써 물질 즉, 기름 이동 차단막으로 사용되었다(Trezza and Vergano, 1994). 또한 우유 단백질 중 casein은 신선편의 식품의 유통기간을 연장시키는데 사용하였다(Avena-Bustillos and Krochta 1993). 게다가 이러한 단백질 원료를 저가의 곡류 단백질이나 산업 부산물을 이용함으로써 경제적 이득은 물론 자원 재활용이라는 큰 의미를 부여할 수 있을 것이다.

미강은 현미를 백미로 도정하는 과정에서 필수적으로 수반되는 것으로 현재는

미곡종합처리장의 보급으로 대량 생산되고 있으나 그 중 20~30%는 미강유 제조에 쓰이고 나머지는 사료로 쓰이거나 농산물 폐기물로 처리되는 실정이다. 그러나, 미강에는 단백질이 12~16%, 식이섬유가 20~25%이며, 지방이 16~22% 함유되어 있어(Saunders, 1990) 영양학적, 경제적으로 매우 가치가 높다. 최근에는 그 밖에도 여러 가지 인체에 유효한 미량성분들(Keith and Hargrove, 1993)과 다양한 생리적 기능(Kahlon et al., 1992; Osawa et al., 1985; Muramoto and Kawamura, 1991)에 대한 연구가 활발한 실정이다. 또한 미강과 탈지강에서 단백질을 추출한 연구가 많이 수행되어 왔고(Chen and Houston, 1970; Connor et al., 1976; Bestschart et al., 1977), 미강 분리 단백질의 기능적 특성(Bera and Mukherjee, 1989), 미강 단백질 필름의 기계적 특성(Gnanasambandam, 1997), 화학적 modification에 의한 미강 단백질의 기능 향상(Cheftel et al., 1985; Thompson and Cho, 1984)에 대한 연구 보고도 있다. 그러나 실제로 미강 단백질을 추출하여 제조한 필름을 식품에 응용한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 우리나라의 주식인 미곡으로부터 필수적으로 수반되는 부산물인 탈지강에서 단백질 필름을 제조하여 직접 쌀에 코팅함으로써 저장기간 동안 쌀의 품질 저하를 방지하고 또한 산업 폐기물로 버려지는 탈지강의 식품 소재화를 위한 일환에 그 목적을 두고 있다. 그러나 탈지강 단백질을 이용한 식이성 필름의 실용화를 위해서는 필름의 열수에 대한 높은 용해도와 원료가 단백질이라서 쉽게 부패하는 문제점을 해결할 필요가 있다. 이런 결함을 보완하기 위해 방부제를 사용하는 방법을 모색할 수 있다.

Bacteriocin은 미생물이 생산하는 천연의 무독성 방부제로 주목받고 있는 항균성 단백질로 인체에 섭취되면 소화기관의 단백질 가수분해 효소에 의해 분해됨으로써 인체에 무독하고 잔류성이 없는 장점이 있다. 또한 기존의 항생제가 미생물의 2차 대사산물인데 비해 bacteriocin은 유전자로부터 직접 생합성 되므로 유전자 조작 등에 의한 생물 공학적 응용이 쉽다는 측면에서 기존의 화학적 보존제를 대체할 수 있는 새로운 생물학적 보존제로서 식품 등의 천연 방부제로서의 효용성이 증대되고 있다. 한편 Bacteriocin 크기는 작은 펩타이드에서 지방 또는 탄수화물과 결합된 단백질까지 다양하며, 특히 분자량이 작은 bacteriocin은 그 소수성 때문에 다른 세포 단백질과 결합하여 같이 정제되므로 순수한 bacteriocin의 정제가 어렵다. 또한 일반적으로 bacteriocin은 항균물질 생산균주 자신과 계통학적, 분류학적으로 근접한 균종으로 제한된 좁은 항균범위를 나타낸다(정 등,

1998). 그러나 Bacteriocin 생성 균주는 자가면역적 특성에 의해 bacteriocin을 생성하며, 이렇게 생성된 bacteriocin은 항균성의 특성 때문에 산업적인 적용이 매우 유용하며(Nes와 Nissen-Meyer, 1993; Reis 등, 1994), 최근 Scott 등(1997)의 연구에서 보고 된 바와 같이 *Staphylococcus aureus*가 생성하는 bacteriocin이 광범위한 항균 활성을 나타냄으로써 천연 방부제로서의 산업적인 적용이 더욱 유용하게 되었다(이 등, 2000). Bacteriocin에 대한 최초 연구는 Gratia가 1925년 *Escheria coil*가 생산하는 항균성 단백질을 발견하고, 이 발견한 항균성 단백질을 Colicin이라 명명한 것이 처음이었다. 그 이후 bacteriocin에 대한 지속적인 연구로 식품 품질 보존의 목적을 갖는 식품첨가제로서 인체에 흡수될 지라도 쉽게 분해 될 수 있는 대표적인 물질이 우유의 젖산균이 생산하는 Nisin이다. 이 물질은 이미 영국에서는 상품화 되었고, 1988년 4월 미국에서 GRAS(Generally Regarded As Safe)물질로 인정받았으며 주로 유제품 및 육류의 품질보존, 통조림 제품의 살균 등에 많이 이용되고 있다. 또한 많은 연구에서 보고 된 바, 비교적 고온에서 안정하며 광범위한 pH에서도 안정성을 가지며 무독, 무색, 무취이므로 화학합성방부제를 대체할 수 있는 천연방부제로서의 광범위한 용도개발이 기대된다. 현재 국내에서도 박테리오신의 식품에의 응용 등 산업적 효용의 방대함을 감안하여 자연계에서 박테리오신 생산 미생물을 분리하고 분리한 미생물이 생산하는 박테리오신을 생산하기 위한 실험이 1983년부터 실시되고 있다(Choi 등 1991; Kim 등 1990; Park 등 1983; Park 등 1986; Yoo 등 1989; Yoo 등 1991; Yoo 등 1992). 이와 같은 박테리오신의 개발은 비교적 산업화가 용이하다고 사료되며, 일부의 합성 보존제를 대체함으로써 식품 보존 기술의 새로운 장을 열 수 있을 것으로 여겨진다.

한편, 일반적으로 유지식품에서 산패경로는 첫째, 외기성분의 흡수 또는 오염, 둘째, 가수분해에 의한 지방산의 방출로 불쾌취의 생성, 셋째, 유지의 산화에 의한 산화생성물의 발생으로 불쾌취와 나쁜 맛을 내는 것으로 알려져 있다(김동훈, 1994). 이들 유지의 산화경로 중 가장 빈번히 그리고 심각한 변화는 산화에 의한 변화를 들 수 있으며, 공기 중의 산소와 결합하여 일어나는 즉, 산화반응에 의해서 일어나는 냄새나 맛의 변화를 들 수 있다. 이들 산화생성물은 식품에 풍미변화분만 아니라 인체 내에서 독성작용을 하는 것으로 알려져 있어(Yagi K, 1987) 식품의 보존뿐만 아니라 식품의 안전성 면에서도 유지의 산패는 억제되어야 한다. 유지의 산화 중 특히 자동산화는 온도, 광선, 산소, 금속, 수분 같은 여러 개

시 인자들에 의존하므로 이들 제 요인의 조절에 의한 지방질의 과산화 방지를 일차적으로 고려해 볼 수 있다. 즉, 저장 온도를 낮추고 UV선을 비롯한 광선을 가능한 차단하는 등 외적 인자들을 최소화하는 방법, 금속이온이나 기타 내적 인자를 제거하는 방법, 저장 및 가공 중 산소를 가능한 제거하고 적절한 포장용기를 사용하는 방법 등이다*). 그러나 완벽하고도 근본적인 항산화 기술이나 과산화 반응의 조절은 거의 제시하기가 불가능하며 현재까지는 주로 항산화제에 의존하고 있다. 항산화제는 일반적으로 천연 항산화제와 합성 항산화제로 나눌 수 있으며, 천연 항산화제는 대체로 합성 항산화제 보다 가격이 높고 효율 역시 합성 항산화제 보다 낮으므로 합성 항산화제만큼 널리 사용되지는 않았다. 그러나 합성 항산화제에 대한 규격이 엄격해지고 합성 항산화제의 발암성, 안정성 등에 의문이 제기되면서(Branen, 1975; Ito et al.,1983) 식품 산업 등의 이용 면에서 천연 항산화제가 새로운 관심을 크게 얻고 있다. 이러한 이유로 인해 본 실험에서는 대두박에서 isoflavone을 추출하여 항산화제 및 항암기능성분으로 첨가하여 쌀의 산화를 억제하고 항암효과가 있는 기능성 쌀을 생산하고자 한다.

콩에 들어있는 여러 기능성 성분 중 isoflavones은 phytoestrogen으로 분류하며, 대두의 질병 예방 효과에 대부분의 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 대두의 isoflavones에 대한 여러 연구 결과, 항산화 기능(inhibition of reactive oxygen species production) 이외에도 estrogenic activity(binding to estrogen receptors, modulation of sex hormone binding globulin), steroid metabolizing enzyme의 억제 기능(protein tyrosine kinase, 5-alpha reductase 와 angiogenesis의 억제), atherosclerotic plaque 형성 억제 기능 등의 생리적 기능이 있는 것으로 보고되었다(권완대 등, 1998). 이러한 isoflavone을 탈지강 단백질 코팅액에 첨가하여 코팅제를 제조한다면 쌀의 산화방지뿐 아니라 국민보건증진에 큰 역할을 할 수 있으리라 기대된다.

따라서 본 연구에서는 쌀의 건조저장 시, 수분 및 미생물에 의한 품질의 저하를 방지하기 위해 사용하고자 하는 탈지강 단백질 코팅제의 짧은 저장기간의 문제점을 해결하기 위한 방법으로 비교적 약한 물리적 특성을 지닌 탈지강단백질을 화학적 modification을 통하여 물성을 강화하고 bacteriocin을 원료 탈지강에 직접 배양하여 탈지강 단백질 코팅제의 저장기간을 연장시키며 코팅제에 대두 isoflavone을 강화하여 저장성이 우수하고 건강지향적인 고품질의 쌀을 가공하는 것을 최종목적으로 한다.

제 2 절 실험 재료 및 방법

1. 탈지강 단백질 추출 및 필름제조

가. 원료

실험에 사용된 미강은 정미소에서 구입하여 냉동고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

나. 미강의 조단백질 함량 정량

미강의 단백질 함량은 kjeldahl법으로 3회 반복하여 그 평균값을 사용하였다.

다. 탈지강 단백질 추출

미강을 hexane으로 1시간 탈지시켜 탈지강으로 만들어 blender(Hanil, Korea)로 2분간 교반시킨 후 냉동고에 보관하면서 단백질 추출에 사용하였다. 탈지강에 10 배(w:v)의 용매를 가하여 3시간 동안 string하면서 단백질을 추출하여 먼저 거즈에 거른 후 5,000 rpm, 15분간 원심분리하여 그 상등액을 Lowry method에 의해 단백질 함량을 계산하였다.

1) 용매 종류에 따른 추출율

Sodium chloride, sulfuric acid, ethanol의 농도별로 각각 탈지강 단백질을 추출하여 최적 추출용매를 결정하였다.

2) pH에 따른 추출율

용매의 pH를 7~12까지 1N NaOH와 1N HCl로 pH를 조절하여 최적추출pH를 결정하였다.

3) 단백질 변형(modification)에 따른 추출율

단백질 병형에 따른 단백질 추출율을 알아보기 위해 acetic anhydride, succinyl anhydride, phosphoric acid를 각각 0.1% 첨가하여 탈지강단백질과 반응시킨 후, 각각의 추출율을 산출하였다.

라. 단백질 변형정도

탈지강 단백질 추출물의 단백질 변형정도 측정은 ninhydrin assay을 이용하였다. Ninhydrin 용액 1ml에 단백질 추출액 1ml을 넣고 혼합한 후, 끓는 물에서 5분간 반응시킨 후 찬물에서 상온까지 식혀서 증류수 5ml를 넣고 혼합한 후 580nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 흡광도는 ninhydrin 시약과 반응한 free amino acid group의 수를 나타내는 것으로 변형시킨 단백질과 변형시키지 않은 단백질의 흡광도 차이로 단백질 변형정도를 알 수 있다. 단백질 변형은 acetic anhydride, succinyl anhydride, phosphoric acid를 농도별(0%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 1.0%, v:v)로 첨가하여 각각 acetylation, succinylation, phosphorylation함으로써 달성하였다. 단백질 변형정도는 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Modification}(\%) = \frac{\text{No. of amino groups}_{\text{unmodified}} - \text{No. of amino groups}_{\text{modified}}}{\text{No. of amino groups}_{\text{unmodified}}} \times 100$$

마. 탈지강 분리 단백 제조

탈지강 분리 단백질 분리 과정을 Fig.1.에 도식화하였다. 탈지강에 10% ethanol을 10배가하여 pH를 9로 조정하고 3시간 동안 추출하여 거즈에 걸러 원심 분리한(4°C, 8000rpm, 20분) 후, 그 상등액을 취하여 1N HCl로 pH를 4로 조절하여 다시 원심 분리하여 그 상등액은 버리고, 침전물만 수거하여 pH 7로 중화하여 동결 건조시켜 냉동 보관하며 향후 실험실규모의 연구에 사용하였다. 이 탈지강 분리 단백질로 탈지강 단백질 표준곡선을 작성하여 Lowry method에 의한 단백질 분석의 기준으로 하였으며, 탈지강 분리 단백질의 조단백질 함량은 kejldahl법을 이용하여 구하였다.

바. 탈지강 분리 단백질의 SDS-polyacrylamide gel 전기영동

탈지강 단백질의 분자량을 조사하기 위해 먼저 탈지강 분리 단백질을 제조하여 Weber 등의 방법에 따라 10% polyacrylamide gel을 사용하여 전기영동하였다. 탈지강 분리 단백질 0.1g을 sample buffer 1ml에 넣고 mixing하여 10분간 방치

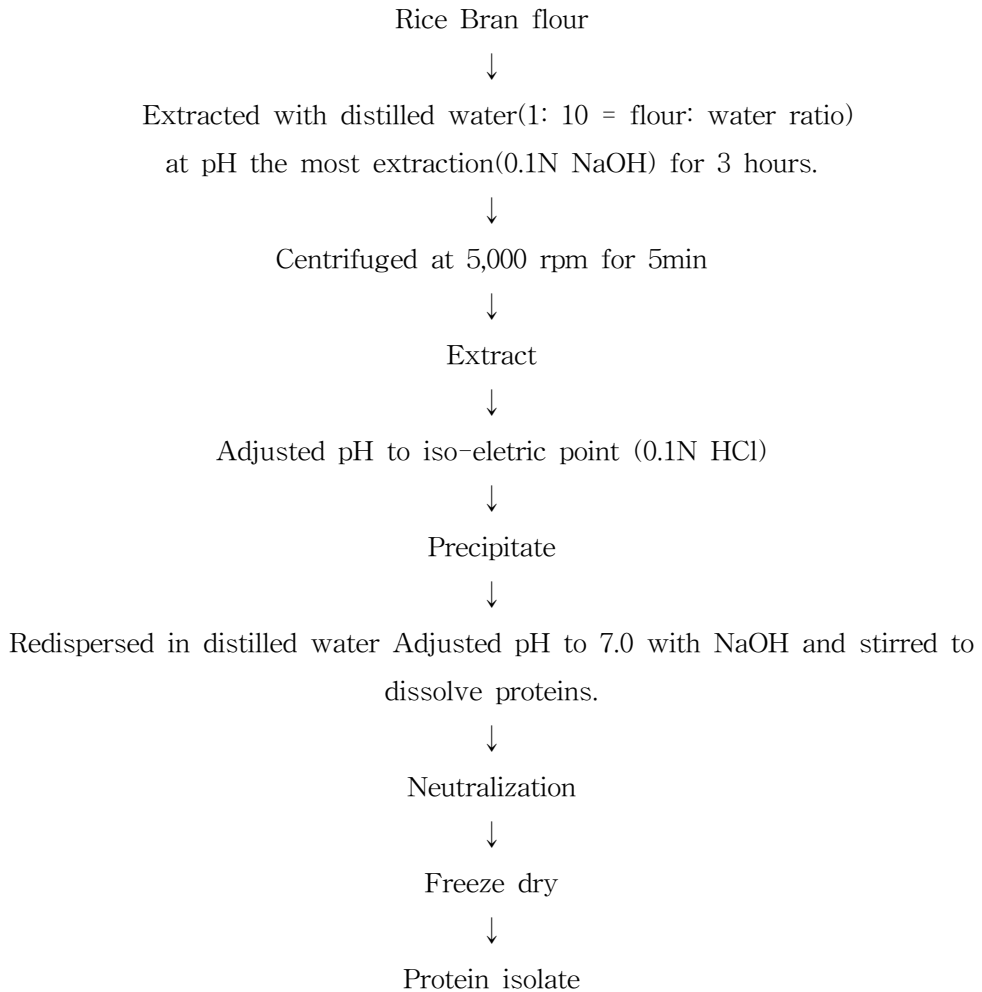


Fig. 1. Flow diagram for preparation of protein isolate from rice bran.

후, 원심분리하여(4℃, 3000rpm, 20초) 상층액을 15분간 증탕하였다. 시료 전처리
를 마친 후 gel에 10 μ l를 주입하여 150 volts로 90분간 전기영동하였다. 전기영동
후, comassie brilliant blue R-250으로 염색하고 10% methanol, 7% acetic acid
solution으로 탈색하였다. 분자량 표준 단백질로 Prestained SDS-PAGE
standards, Broad Range(BIO-RAD Inc., USA)을 사용하였다.

사. 탈지강 단백질 필름 제조

탈지강 단백질 필름은 탈지시킨 탈지강에 10% ethanol을 5배(w:v) 가하여 pH 9로 맞추면서 3시간 동안 추출한 후 거즈에 거른 후 단백질 추출액으로 사용하여 제조하였다. 탈지강 단백질 추출액에 가소제를 첨가하여 잘 혼합시킨 후, hot plate에서 80℃까지 가열하여, 2분간 유지하였다. 평평한 plate에 기포가 생기지 않도록 부어서 37℃, 24시간 오븐에서 건조하였다. 건조된 필름은 잘 떼어서 냉동 보관하여 시료로 사용하였다.

1) 가소제 종류별 및 농도별 탈지강 단백질 필름 제조

탈지강 단백질 필름 형성에 가소제의 영향을 살펴보기 위해 glycerol과 sorbitol을 농도별(1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5%, v/v)로 첨가하여 필름을 제조하였다.

2) 화학적 modification된 탈지강 단백질을 이용한 필름 제조

단백질 변형은 탈지강 단백질 추출물에 acetic anhydride, succinyl anhydride, phosphoric acid를 농도별(0.1%, 0.5%, 1.0%, v/v)로 넣고, pH 9로 맞춘 후(2N NaOH), 30분간 반응시킨 것을 사용하였다.

아. 탈지강 단백질 필름의 두께 측정

필름의 두께는 0.001mm의 정밀도를 갖는 micrometer(Model 293-561-30, Mitutoyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 시료의 두께는 필름의 10부위를 무작위로 선별, 측정하여 그 평균값을 사용하였다.

자. 탈지강 단백질 필름의 수분 투과도

탈지강 단백질 필름의 수분 투과도(Water vapor permeability)는 Poly(methyl methacrylate)로 제작한 투습컵을 사용하여 상부까지 약 1cm의 공간이 생기도록 증류수를 넣고, 투습도 측정용 필름을 투습컵의 입구에 밀착시켜 밀봉한 후 무게를 측정하여 25℃와 50% RH로 조절되는 항온 항습기에 넣고 3시간 동안 매 1시간 간격으로 투습컵의 무게를 0.0001g의 정밀도로 측정하였다. 수분 투과도는 필름을 봉하지 않은 투습컵의 무게를 100%, sealing film으로 봉한 투습컵의 무게를 0%로 잡고 각 필름으로 봉한 투습컵의 무게 변화를 %로 환산하여 계산하였다.

차. 탈지강 단백질 필름의 산소 투과도

탈지강 단백질 필름의 산소 투과도(oxygen gas transmission rate)는 Analytical Gas Permeability Fractometer(Model-GPM 500, Lyssy co, Switzerland)와 준등압법(Karel 등, 1963)을 이용한 gas chromatography를 사용하여 측정되었다. 염화칼슘을 넣은 데시케이터 안에 필름을 넣고 22℃에서 48시간 건조시킨 후, 25℃에서 산소 투과도가 측정되었다. 이때 gas chromatography의 조건으로, Inj., Col., Dec. 온도는 모두 40℃이었고, carrier로는 He를 58ml/min의 속도로 사용하였다. 시료로는 가소제로 glycerol 2.0%, sorbitol 2.0%를 첨가한 필름과 acetic anhydride 0.1%, phosphoric acid 0.1%, succinic anhydride 0.1%를 첨가하여 단백질을 변형시킨 필름을 사용하였다.

카. 탈지강 단백질 필름의 인장강도 및 신장율

탈지강 단백질 필름의 인장강도(Tensile Strength : TS)와 신장율(Elongation at break : E)은 ASTM Standard Method D 882에 의해 Texture analyzer(TA plus, Lloyd instruments, England)를 사용하여 측정하였다. 초기 grip간의 간격은 4cm이고, cross-head의 속도는 120mm/min, 필름의 크기는 10×20 mm이었다. 필름의 인장강도는 필름이 끊어질 때까지 기록된 최대의 장력을 필름의 단면적으로 나누어 계산하였으며, 필름의 신장율은 필름이 끊어질 때까지 늘어난 길이를 필름 초기 길이에 대해 백분율로 나타내었다.

2. 대두박으로부터 isoflavone 추출의 최적화 및 분석

대두 isoflavone 추출은 대두유 가공 시에 부산물로 발생하는 대두박을 이용하여 이루어졌다. Isoflavone 추출 시, 순도를 높이기 위해서는 여러 번의 반복 추출이 이루어져야 하겠지만, isoflavone의 용도가 정제가 아닌 식품이며 경제성을 고려하여 건조 대두박을 80% 메탄올용액에 2일 동안 교반추출 건조하여 탈지강 단백질 코팅제에 적용하였다. 이때, 추출건조물에서의 isoflavone 함량 및 차후 코팅 쌀의 isoflavone 함량은 다음의 조건 하에서 HPLC 분석하여 retention time의 비교

로서 측정되었다.

- instrument : Waters HPLC with gradient pump system
- detector : Photo Diode Array UV/VIS detector
- column : μ -Bondapak C18 (25 mm x 5 mm)
- eluent : 5mM NaH₂PO₄ + methanol (4:6)

불린 콩의 대두박, 탈지된 대두박, 생콩을 blender(Model 34BL22)로 30sec 동안 분쇄한 후 각각을 sample로 하였다. 각 sample을 80% methanol에 넣어 70℃ 향온수조에서 5시간동안 열수추출한 후 실온으로 방냉하였다. 방냉 후에 여과기로 여과하고 여과액을 evaporator로 농축시켰다. 이 농축액을 1ml취하여 10배 희석한 후 syringe filter로 걸러서 HPLC로 분석하였다. 이때 HPLC 분석조건은 Table 1과 같았다.

Table 1. Conditions for HPLC analysis of isoflavone

| Items | Conditions |
|-------------------------|--|
| Column | 3.9×300mm part No. WATO27324 |
| Pump | Waters 501 HPLC Pump |
| Detector | Waters 441 absorbance Detector |
| Mobile Phase | Methanol(HPLC급) : Ammonium acetate = 3 : 2 |
| Flow rate | 1ml/min |
| Sample injection volume | 20 μ l |
| Standard | Genistein, Daidzein |

3. Bacteriocin을 이용한 탈지강 단백질 코팅제의 저장성 향상

가. 사용 균주 및 배지

탈지강 배지에서 bacteriocin 생성이 가능한 균주를 선별하고자, 쌀에 존재하는 *Bacillus* sp.와 *Pseudomonas* sp. 균주인 등 9개 균주 *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC9027, *Pseudomonas putida* ATCC21025, *Pseudomonas methanolica* ATCC21960, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Micrococcus luteus* ATCC9341 등을 ATCC에서 분양받아 사용하였으며, *Escherichia coli* KCTC1039, *Bacillus macerans* KCTC1822, *Bacillus cereus* KCTC2744, *Bacillus magaterium* KCTC2178, *Pseudomonas fluorescens* KCTC1767, 등을 KCTC에서 분양 받아 사용하였다(Table 2).

시험균 배양 및 modifide deferred방법은 탈지강배지(3%의 탈지강 함유) 및 탈지강 고체배지(3%의 탈지강과 1.5%의 agar함유)를 이용하여 수행하였다.

Table 2. Bacterial species.

| Bacterial species | Strain and source |
|--------------------------------|-------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | KCTC1039 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC9027 |
| <i>Pseudomonas putida</i> | ATCC21025 |
| <i>Pseudomonas methanolica</i> | ATCC21960 |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | KCTC1767 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | ATCC6633 |
| <i>Bacillus macerans</i> | KCTC1822 |
| <i>Bacillus cereus</i> | KCTC2744 |
| <i>Bacillus magaterium</i> | KCTC2178 |
| <i>Micrococcus luteus</i> | ATCC9341 |

미생물 배양 및 spot-on-lawn방법에는 Tryptic soy borth (Soybean-casein digest agar dehydrated, Difco Inc., USA)를 이용하였다.

나. Bacteriocin 생성 균주 탐색 및 선발

쌀에 존재하며 토양미생물인 균주의 bacteriocin 활성은 Ahn과 Stites의 방법을 변형한 modified deferred 방법을 이용하여 탈지강 고체 배지에 시험균에 대한 항균활성을 실험하였다. 탈지강 고체 배지에 균주를 백금선으로 접종하여 30℃

에서 48시간(6시간마다) 배양한 후 시험균을 10^7 cell을 포함한 0.75% soft Tryptic soy agar(TSA, Difco) 4 ml를 분주하여 30℃에서 24시간 배양하여 억제환 생성 여부를 관찰하였다.

억제환 생성균주 중 세포 밖으로 항균성 물질을 분비하는 균주를 선발하고 spot-on-lawn 방법을 이용하여 분석하였다. 시험균을 10^7 cell을 포함한 0.75% soft TSA 4 ml를 1.5% TSA에 분주하였다. 0.75% soft TSA가 굳어지면 30℃에서 48시간(6시간마다) 탈지강 액체배지에서 배양한 후 원심분리(6,500 rpm, 20 min)하여 상등액을 취해 0.45 μ m Cellulose Acetate syringe filter를 통과시켜 균을 제거한 후 항생물질 검정용 여지(paper disc)에 100 μ l를 분주하여 30℃에서 12시간 배양 후 억제환 생성 여부를 관찰하였다. Phages에 의한 가능성은 flip-plate assay 방법과 improved deferred 'sandwich' 방법 또는 희석하여 spot-on-lawn 방법으로 억제환이 감소하는 것을 확인함으로써 배제할 수 있으므로 배양상등액을 10 mM 인산염 완충용액으로 2배 희석하여 phages에 의한 가능성을 조사하였다.

다. 배양조건이 선발균주의 bacteriocin 생성에 미치는 영향

선발 균주의 성장상(growth phase)과 bacteriocin 생성에 배양조건이 미치는 영향을 조사하였다.

1) 배양 온도에 따른 영향

배양 온도가 bacteriocin 생성에 미치는 영향을 알아보기 위해 선발 균주를 탈지강 액체 배지에 접종하고 20, 30, 37, 50℃의 항온 배양기(이름표기)에서 150 rpm으로 각각 배양하면서 일정시간 간격으로 시료를 취하여 증식도와 bacteriocin의 항균 활성을 관찰하였다.

2) 배지의 pH에 따른 영향

탈지강 액체 배지를 pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 및 pH 9.0로 1N NaOH, 1N HCl로 조절하여 선발균주를 접종하여 30℃에서 배양하면서 선발 균주의 증식도와 bacteriocin의 항균 활성을 관찰하였다.

3) 증식도 측정

배양이 완료된 배양액을 균질화 시켜 1ml을 취해 0.85% 멸균 생리식염수로 $10^1 \sim 10^9$ 까지 단계까지 희석하여 15% TSA(Tryptic Soy agar)에 0.1ml씩 평판도말 한 후

24시간 배양하여 나타난 균수를 총 생균수로 측정하였다.

라. Bacteriocin 생성균주 *Pseudomonas putida* 배양

탈지강은 수분 13.5%, 단백질 13.2%, 지방 18.3%, 당질 38.3%, 섬유소 7.8%, 회분 8.9%을 함유하고 있어서 탄소원으로 당질, 질소원으로 단백질을 그대로 이용할 수 있기 때문에 배지에 탈지강 이외의 다른 성분을 첨가하지 않고 액체 배지를 만들어 사용하였다. 탈지강 액체 배지(초기 pH 6.48)에 bacteriocin 생성 균주 *Pseudomonas putida* 21025를 접종하여 30℃ 항온 배양기에서 150rpm으로 33시간 배양하였다.

마. *Pseudomonas putida* 항균 활성 분석

Pseudomonas putida 21025의 항균활성은 modified deferred 방법을 이용하여 탈지강 고체 배지로 시험균에 대한 항균활성을 실험하였다. 탈지강 고체 배지에 *Pseudomonas putida*를 접종하여 30℃에서 33시간 배양한 후 시험균을 10^7 cell을 포함한 0.75% soft TSA 4 ml를 *Pseudomonas putida*를 접종한 탈지강 고체 배지에 분주하여 30℃에서 12시간 배양하여 억제환을 관찰하였다. 항균 활성의 크기는 억제환의 지름(mm)으로 나타내었으며 결과는 2회 반복하여 나타내었다.

바. *Pseudomonas putida*의 bacteriocin 활성 분석

Bacteriocin 활성은 spot-on-lawn 방법을 이용하여 분석하였다. 시험균을 10^7 cell을 포함한 0.75% soft TSA 4 ml를 1.5% TSA에 분주한다. Soft TSA가 굳으면 *Pseudomonas putida* 21025를 탈지강 액체배지에 30℃, 33시간 배양한 배양액을 6,500 rpm으로 4℃, 20분간 원심분리하여 상등액을 0.45 μ m Cellulose acetate syringe filter로 여과하여 채운 배양액을 항생물질 검정용 여지에 100 μ l를 흡수시켜 30℃, 37℃에서 12시간 후 억제환을 관찰하였다. 항균활성(activity units, AU)은 bacteriocin을 2배씩 희석하여 계산하여, 결과는 2회 반복하여 나타내었다.

사. pH, 온도, 유기용매에 대한 안정성

탈지강 단백질 추출 시 우려되는 bacteriocin의 활성 소실을 고려하기 위하여 각 추출조건에 대한 bacteriocin의 안정성을 조사하였다.

1) pH

pH에 따른 bacteriocin의 안정성을 고찰하고자, 0.45 μ m syringe filter로 여과한 배양액을 1N NaOH 용액과 1N HCl 용액으로 pH 2.0에서 pH 10.0까지 조절된 용액과 bacteriocin 배양액을 1:1로 하여 4°C에서 3시간 동안 bacteriocin의 활성도를 측정하였다. 대조군으로 10 mM 인산염 완충용액(pH 7.0)을 이용하였다.

2) 온도에 대한 안전성

Bacteriocin의 열 안정성을 조사하고자, 제공한 배양 상등액을 25~100°C에서 20분 간격으로 1시간동안 중탕하여 활성도를 측정하였다. 또한 탈지강 배지 제조 시 autoclave를 이용하기 때문에 121°C, 15분 처리군도 활성도를 측정하였다.

3) 용매에 대한 안전성

단백질 추출용매에 따른 bacteriocin의 안정성을 고찰하고자, 제공한 배양 상등액을 동량의 에탄올, 메탄올, 톨루엔, 메틸 클로로포름, 헥산, 아세톤을 가하여 1분간 vortex한 후 상온에서 3시간 방치하였다. Turbo Vap LV Evaporator(Zymark Inc., USA)를 사용하여 20°C, 1시간 건조시킨 후 동량의 10 mM 인산염 완충용액(pH 7.0)에 다시 녹여 bacteriocin의 활성도를 측정하였다. 대조군은 Turbo Vap LV Evaporator에 의한 영향을 고려하기 위해 용매처리하지 않고 제공한 배양 상등액을 사용하였다.

아. Bacteriocin의 부분정제

Bacteriocin의 부분정제는 *Pseudomonas putida* 21025를 탈지강 액체배지에 36시간 배양한 배양액을 6,500 rpm으로 4°C, 20분간 원심분리한 상등액을 황산암모늄에 의한 염석법을 이용하였다. Bacteriocin 유도 용균액에 황산암모늄을 20% 포화시켜 4°C에서 2시간 정치한 후 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다.

원심분리된 상등액만을 다시 취하여 황산암모늄을 50% 포화되게 서서히 저으면서 넣고 4°C에서 2시간 정치 후 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 침전물을 소량의 10 mM 인산염 완충용액(pH 7.0)에 용해시킨 후,

Spectra-Por no.3 dialysis tubing(molecular weight cutoff 3,500, Spectrum Medical Industries, U.S.A.)을 이용하여 4℃에서 48시간 투석하였다. 투석한 시료는 동결건조한 후, 10 mM 인산염 완충용액(pH 7.0)으로 용해시켜 사용하였다.

자. Bacteriocin의 SDS-PAGE 전기영동

부분 정제된 bacteriocin의 순도 및 분자량을 조사하기 위해 Weber 등(36)의 방법에 따라 10% polyacrylamide gel을 사용하였다. 제균한 배양액을 시료 완충용액으로 전처리하여, 10 μ l씩 주입하여 150 Volts로 90분 동안 전기영동하였다. 전기영동 후, comassie brilliant blue R-250으로 염색하고, 10% 메탄올, 7% 아세트산의 용액으로 탈색하였다. 분자량 표준 단백질로는 Bio-Rad회사의 Prestained SDS-PAGE standard marker (broad range)를 사용하였다.

차. Bacteriocin에 의한 탈지강 코팅제의 저장성

탈지강 코팅제의 저장에 따른 부패도를 실험하기 위해 아미노태 질소량을 측정하였다. Bae 등(12)의 단백질 추출법을 이용하여 탈지강을 10% 에탄올로 pH 9.4로 조절하면서 단백질을 추출하였다. 탈지강 단백질 추출액을 가온 교반기를 사용하여 교반하면서 80℃까지 가열하여 가소제로 글리세롤 2%를 첨가하였다. 80℃에 이르면 2분 더 가열한 후 방냉하고, 40℃에 이르면 10⁵cell을 포함한 지시균, 10⁵cell을 포함한 지시균과 제균한 배양 상등액 5%, 10⁵cell을 포함한 지시균과 제균한 배양상등액 10%를 각각 첨가하여 25℃에서 24시간 건조하여 탈지강 단백질 코팅제를 제조하였다. 탈지강 코팅제의 저장에 따른 부패도를 조사하기 위해 아미노태 질소량을 포르몰법을 이용하여 측정하였다.

탈지강 단백질 코팅제 1g을 250ml의 증류수에 녹인 후 25ml를 취하여 pH 8.5 포르말린용액을 20ml, 페놀프탈레인 지시약을 약 2방울 가하여 0.1N NaOH용액으로 pH 8.5가 될 때까지 적정하였다. 아미노태 질소량은 다음 식에 의해서 산출하였다.

$$\text{Amino Nitrogen}(mg\%) = \frac{(A-B) \times F \times 1.4}{S} \times 100 \times \text{dilution factor}$$

A : 0.1N NaOH소비 ml

B : 공시험 0.1N NaOH 소비 ml

F : Factor of 0.1N NaOH

카. Bacteriocin 함유 탈지강 단백질 포장제에 의한 식품의 방부효과

Bacteriocin을 함유한 단백질 포장제의 방부효과를 조사하기 위해 슬라이스 햄을 포장한 bacteriocin 함유 단백질 포장제 표면에 지시균을 접종하여 포장된 햄의 미생물 번식 정도를 조사하였다. 표면에 각각 지시균주가 접종된 슬라이스햄 약 3g을 탈지강 단백질 포장제와 bacteriocin 함유 탈지강 단백질 포장제로 포장하여 균 번식도를 비교하였다. 대조군은 슬라이스 햄 약 3g에 지시균주를 직접 접종하여 관찰하였다.

4. 탈지강 단백질 코팅제로 코팅된 쌀의 저장성 및 이화학적 성질

가. 실험실 및 pilot-plant규모의 코팅쌀 제조

탈지강에 10% 에탄올을 5배 첨가하여 pH 9로 조절하면서 3시간 동안 추출 한 탈지강 단백질 추출액에 glycerol 2%(v/v)을 첨가하여 80℃까지 가열한 후, 상온에서 식혀 코팅액으로 사용하였다. 코팅액을 서서히 string하면서 현미를 거즈에 담아서 코팅액이 현미에 균일하게 코팅되게 적신 후 전자레인지에서 40초간 열처리 하였다. 그 후, 통풍이 되는 용기에 담아 상온에서 자연 건조시켜서 LDPE (저밀도폴리에틸렌)에 담아서 상온에서 8주간 저장하면서 품질의 변화를 고찰하였다. 항산화제를 첨가하지 않은 코팅쌀의 코팅횟수는 1, 2, 3, 4, 5회로 하였고, 코팅액에 대두 isoflavone 추출액 2%(w/v)를 첨가한 코팅쌀은 5회 코팅하여 시료로 사용하였다.

실험실규모의 실험에서 밝혀진 최적조건에 따라 코팅액을 제조하여 건국대학교 실습농장(여주소재)에서 pilot-plant규모로 코팅쌀을 제조하였다. 현미 및 10분도미 각각 60 kg에 코팅액을 분무하여 건조장치(HB-503LF, Hanbaek Co.)에서 1시간 35℃ 냉온건조하였다. 이와 같은 코팅작업을 3 혹은 5회 반복한 후, 자동포

장기를 이용하여 8 kg단위로 소포장하여 상온저장하며 차후의 분석실험을 행하였다. 이때 실제규모의 건조장치는 최소 운전가능 곡물량이 8 ton이상이어서 pilot-plant규모의 건조장치를 사용하였다.

나. 코팅쌀의 무게 변화

저장기간 동안 코팅쌀의 무게변화는 0.0001g 단위까지 측정 가능한 저울(HF-200 GD, A&D Company, Limited, Japan)을 사용하여 8주까지 측정하였다.

다. 코팅쌀의 색도 변화

코팅쌀의 색도는 Color and color difference meter(CR-210, Minota Co.,Japan)를 사용하여 측정하였으며 3회 측정치의 평균값을 나타내었다.

라. 코팅쌀의 pH 변화

저장기간 동안 코팅쌀의 pH 변화는 pH meter(Model 720P, Isteck Co., Korea)을 사용하여 측정하였다. 코팅쌀 10g을 마쇄하여 증류수 100ml을 넣고 1시간 동안 strring한 후 pH를 측정하였다.

마. 코팅쌀의 산패도 측정

1) 코팅쌀의 지방 추출

코팅쌀의 산패도 측정을 위해 지방 추출은 Folch법에 따라 추출하였다. 코팅쌀 100 g을 blender(Hanil, Korea)로 분쇄한 후 chloroform:methanol (2:1, v/v) 혼합액 300ml를 넣고 24시간 교반시킨 후 여과지(whatman No.2)를 이용하여 지방추출액을 분액여두에 옮긴다. 여기에 동량의 증류수를 넣고 잘 교반하여 정치시킨 후 분리된 하층을 받아서 evaporator를 이용하여 용매를 제거하여 지방 시료로 이용하였다.

2) 과산화물가 측정 (Peroxide value)

코팅쌀의 저장기간 동안 과산화물가 변화는 AOAC Official Method 965.33방법

에 따라 측정하였다. 코팅쌀 100g에서 추출한 지방 시료에 acetic acid:chloroform (3:2, v/v) 혼합용액 30ml를 넣고 천천히 용해시킨 후 포화 KI용액 0.5ml를 넣고 1분간 교반하여 5분간 암실에 방치한다. 여기에 증류수 30ml, 1% 전분용액 0.5ml를 넣고 0.01N Na₂S₂O₃용액으로 푸른색이 사라질 때까지 적정하였다. 공실험은 시료를 넣지 않고 위와 동일하게 측정하였다. 과산화물가는 다음 식에 의해서 계산하였다.

$$\text{Peroxide value(miliequivalent peroxide/kg sample)} = S \times N \times 1000 / g \text{ sample}$$

S : 0.01N Na₂S₂O₃용액 소비 ml수(Blank 보정)

N: 0.01N Na₂S₂O₃용액의 normality

3) 산가 측정(Acid value)

코팅쌀의 지방산가는 AOAC Official Method 969.17방법에 따라 측정되었다. 코팅쌀 100g에서 추출한 지방 시료에 alcohol : ether(1:1,v/v) 혼합 용액 50ml를 넣고 지방을 용해시킨 후 지시약으로 phenolphthalein 0.1ml를 넣고, 0.1N alcoholic KOH용액으로 분홍색이 사라지지 않을 때까지 적정하였다. 산가는 다음 식에 의해서 산출하였다.

$$\text{Acid value} = S \times N \times 56.1 / g \text{ sample}$$

S : 0.1N alcoholic KOH용액 소비 ml수(Blank 보정)

N: 0.1N alcoholic KOH용액의 normality

4) TBA가 측정

코팅쌀의 저장기간 동안 TBA가의 변화는 식품 분석학의 방법으로 측정하였다. 코팅쌀 100g에서 추출한 지방에 benzene 10ml를 넣고 지방을 용해시킨 후 TBA 시약(TBA용액 : 빙초산=1:1) 10ml를 넣고 4분간 정치한다. 이를 분액여두에서 분리하여 하층을 수거한 후 끓는 물에서 30분간 가열하고 다시 흐르는 물로 냉각시켜 530nm에서 흡광도를 측정하였다. 공실험은 시료를 넣지 않고 위와 동일하게 측정하였다. TBA가 다음 식에 의해서 산출하였다.

$$\text{TBA가} = (A-B) \times 3 \times 100 / S$$

- A : 본 시험의 530nm에서의 흡광도
- B : 공 시험의 530nm에서의 흡광도
- S : 시료채취량

바. 수분결합력 측정(Water binding capacity)

저장 기간 동안 코팅쌀의 수분결합력의 변화는 Medcalf와 Gilles의 방법으로 측정되었다. Centrifuge bottle에 쌀가루 5g, 증류수 75ml를 넣고 1시간 동안 교반 후 원심분리(8000rpm, 30분)한다. 원심분리가 끝나면 상층을 조심해서 버리고 bottle을 10분 이상 180° 옆어서 물을 완전히 제거한 후 bottle무게를 측정하여 쌀가루가 잡고 있는 물의 양을 계산한다.

$$\text{Water binding capacity}(\%) = g \text{ of bound water} \times 100 / \text{시료무게}$$

사. 호화 응집성(Gel consistency)

호화 응집성은 Cagampang 등의 방법에 따라 쌀가루 100mg을 각각 5번 칭량한 후 $\phi 13 \times 100$ mm의 시험관에 넣고 0.025% thymol blue 0.2ml를 넣은 다음 0.2N KOH 2ml를 가하여 5초간 혼합하고 즉시 8분간 boiling하였다. 다음 실온에서 5분간 방치한 후 20분간 얼음물에서 냉각한 다음 시험관을 180°로 눕혀 30분 후 겔이 흐르는 길이를 측정하였다.

아. Amylograph에 의한 호화 특성

코팅쌀의 호화 특성은 Bhattachary 등의 방법을 수정하여 다음과 같이 고찰하였다. 10% 쌀가루 현탁액을 1분간 교반하여 Viscograph PT 100(Brabender, Germany)를 이용하여 30°C부터 분당 3.0°C씩 상승시켜 95°C까지 가열하였다. 이 온도에서 10분간 유지시킨 다음 다시 분당 3.0°C씩 하강시켜 50°C까지 냉각시키면서 호화개시 온도, 최고점도(P), 95°C에서의 점도(H), 50°C로 냉각시의 점도(C)를 측정하여 breakdown은 P-H, setback은 C-P, total setback은 C-H에 의해 계산하였다.

자. 취반특성

각 시료 코팅쌀 100g씩을 5배의 물로 3회 나누어서 수세하여 2배의 가수율을 적용하여 90분간 침지시킨 후 전기밥솥(SJ-104, 삼성전자)에서 취사 후 보온상태에서 15분간 뜸을 들였다. 취반된 밥을 가운데 부분의 밥만을 bowl(지름 23cm, 높이 12cm)에 옮겨 담은 후, 밥알이 손상되지 않도록 주의하여 커다란 포크로 5회 밥을 혼합한 후 5분 냉각시켰다. 이러한 과정을 3회 반복한 후 쌀밥의 조직감과 관능검사용 시료로 사용하였다.

1) 쌀밥의 물리적 조직감

쌀밥의 조직감은 Texture Analyzer(TA plus, LF 1078, Lloyd Instruments, England)를 사용하여 측정하였다. 쌀밥 12g을 원통형 용기(지름 4cm, 높이 3cm)에 담아 성형한 후 꺼내어 plate 중앙에 높이가 평행이 되도록 놓고, Texture profile analyzer로 경도(hardness), 탄력성(springness), 응집성(cohesiveness), 씹힘성(chewingness), 검성(gumminess), 부착성(adhesiveness)을 측정하였다. 측정 조건은 지름 25mm의 plunger를 사용하여 crosshead speed 100mm/min와 60% compression으로 하였다. 모든 시료는 3회 반복 실험하여 평균값을 사용하였다.

2) 쌀밥의 관능검사

관능검사를 위해 흰색의 사기그릇에 약 50g정도의 밥을 담아서 밥의 온도가 60°C가 유지되도록 한 후 뚜껑을 닫아서 시료로 제시하였다. 관능평가요원은 20대 초반에서 30대 초반까지의 건강한 남녀로서 본교 대학원생 14명을 선발하여 사전에 쌀밥의 관능적 품질평가훈련을 시켰다. 관능검사 평가 시 시료에 대한 편견을 없애기 위해 무작위로 알파벳을 표기하였고, 위치 오류와 대조효과에 의한 오차를 최소화하기 위해 시료의 제시 순서도 무작위로 하였다.

쌀밥 시료의 관능검사가 평가에 사용된 검사표(김 등, 1993)는 Table 3과 같다. 쌀밥의 품질특성으로 외관, 냄새, 맛, 조직감 및 전반적인 품질을 측정하였으며 부수적인 특성으로는 윤기, 색, 밥 이외의 냄새, 밥 특유의 맛 강도 및 조직감에서 경도, 탄력성, 낱알의 응집성, 부착성을 측정하였다. 따라서 평가항목은 총 13가지로 9점 항목척도(1=대단히 낮음, 5=보통정도, 9=대단히 낮음)를 사용하였다. 또한 그 결과를 SPSS를 이용하여 통계처리 하였다.

Table 3. Sample sheet for sensory evaluation of cooked rice

가. 탈지강의 조단백질 함량

탈지시킨 미강의 단백질 함량은 kjeldahl법으로 3회 반복하여 평균값을 구한 결과 14.5%로 나타났다. 또한 탈지강 분리 단백질의 조단백질 함량은 74.5%로 나타났다으며 단백질수율에서 25.5% 정도의 차이가 생긴 것은 탈지강 단백질을 추출하여 수거하는 과정에서 생긴 손실로 인한 것으로 생각된다.

나. 용매 종류에 따른 탈지강 단백질 추출률

탈지강 단백질의 용매 종류에 따른 단백질 추출률을 측정하기 위해 sulfuric acid와 sodium chloride를 각각 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0M 농도에서 단백질을 추출한 결과, 단백질 추출률은 Fig. 2와 같았다.

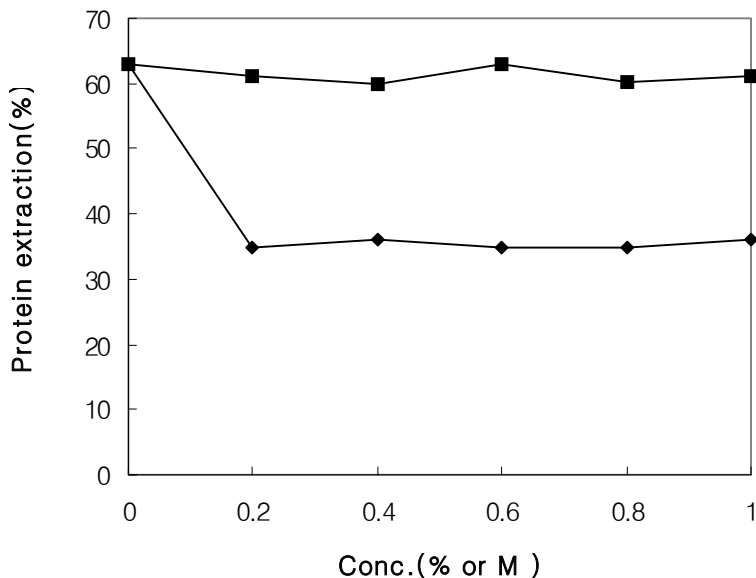


Fig. 2. Effect of sulfuric acid(◆) and sodium chloride(■) concentration on extraction of protein from rice brain.

일반적으로 쌀 단백질 중 염의 용출되는 globulin 함량이 약 20% 정도이나, sodium chloride의 첨가로 탈지강 단백질 추출률을 높일 수 없었다. 또한 탈지강 단백질의 disulfide bond를 끊어 단백질 용해성을 증가시키기 위해 sulfuric acid를 농도별로 첨가해서 단백질 추출률을 측정하였다. 그러나, sulfuric acid 0.2%

첨가했을 때 단백질 추출률이 급격히 감소하였다. 이는 sulfuric acid의 첨가로 pH가 감소하여 오히려 단백질 추출률이 감소한 것으로 생각된다.

Ethanol 수용액 10, 20, 30, 40, 50%에서 탈지강 단백질의 추출률은 Fig. 3과 같았다.

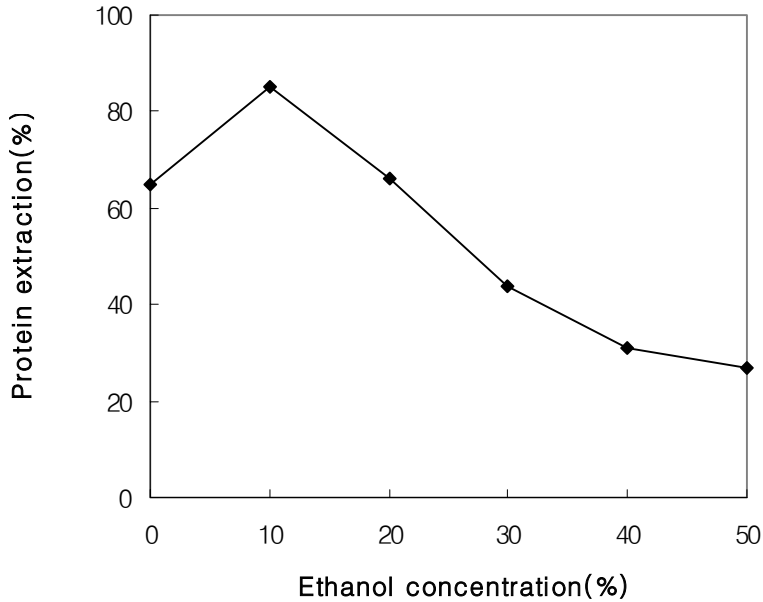


Fig. 3. Effect of ethanol concentration on extraction of protein from rice brain.

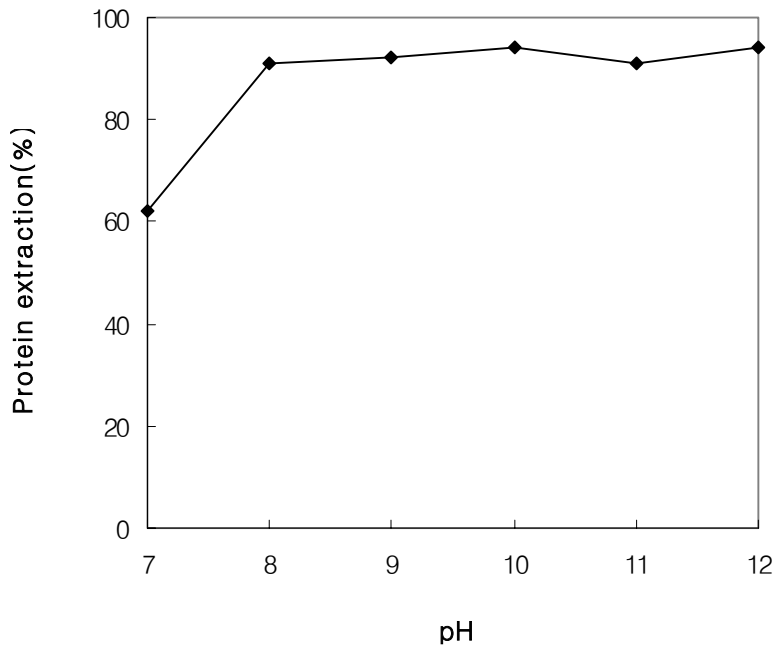
Ethanol 10% 용액에서 탈지강 단백질 추출률이 85%로 용매별 탈지강 단백질 추출에서는 가장 높았다. 이는 쌀 단백질 중 prolamin이 ethanol 수용액에 용출되는 특성 때문에 다른 용매에서 보다 높은 것으로 생각된다.

다. pH에 따른 탈지강 단백질 추출률

용매 종류에 따른 탈지강 단백질 추출률이 가장 높았던 ethanol 10%용액에서 pH 별 단백질 추출률을 다시 측정한 결과 Fig. 4와 같았다. 탈지강 단백질을 추출하

Fig. 4. Effect of pHs concentration on extraction of protein from rice brain.

기 전 용매의 pH는 6.48이었으며 pH는 7, 8, 9, 10, 11, 12로 조절하여 각각 탈지강 단백질 추출률을 측정하였다. pH별 탈지강 단백질 추출률은 pH가 높을수록



추출률이 높았고, pH 8이상에서는 추출률이 거의 비슷했다(91~94%). 탈지강 단백질 추출에 pH의 영향도 탈지강 단백질의 약 75%가 albumin, glutelin으로 물과 알칼리에서 용출되는 단백질 특성 때문이라 생각된다.

라. 단백질 변형에 따른 탈지강 단백질 추출률

단백질 변형에 따른 탈지강 단백질 추출은 ethanol 10%, pH 9로 조정하여 acetic anhydride, succinyl anhydride, phosphoric acid를 각각 0.1% 첨가하여 추출한 결과, 단백질 변형에 따른 탈지강 단백질 추출은 ethanol 10%, pH 9로 맞추어 추출한 결과, succinylation한 탈지강 단백질의 추출률이 97%로 가장 높았으며 변형시키지 않은 것이 95%로 그 다음이었고 이어서 acetylation(94.5%), phosphorylation(94%) 순이었으나, 단백질 변형에 따른 추출률의 차이는 작았다.

마. 단백질 변형정도

Acetic anhydride, succinyl anhydride, phosphoric acid의 첨가 양에 따른 단백

질 변형정도를 Fig. 5에 나타내었다.

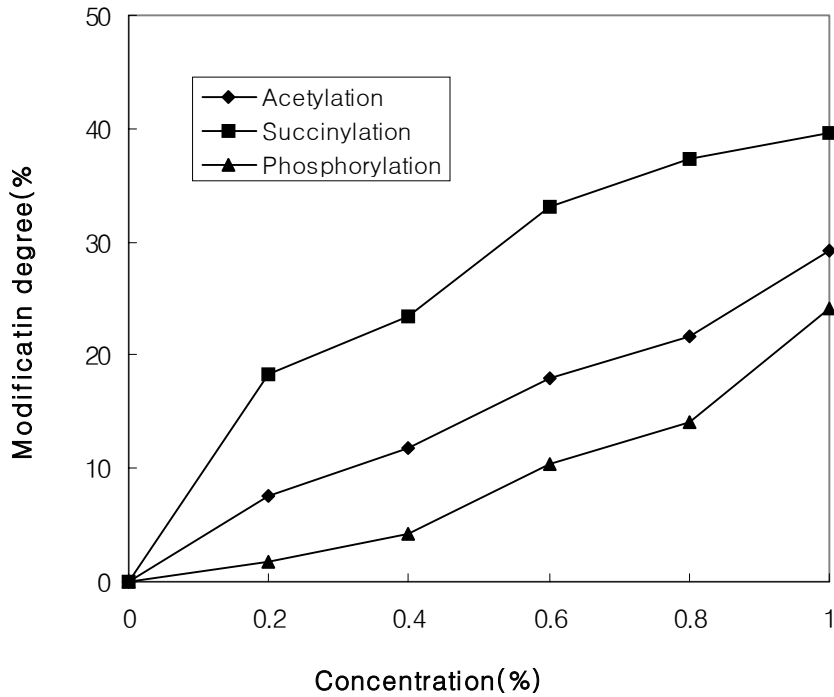


Fig. 5. Extents of modifications according to the used amounts of acetic anhydride, succinyl anhydride and phosphoric acid.

단백질 변형 중에서 succinylation, acetylation, phosphorylation 순으로 변형이 많이 일어났다. Acetic anhydride 2%, succinyl anhydride 1.5%, phosphoric acid 2% 첨가 시 단백질 변형정도가 50~60% 범위였다.

바. 탈지강 분리 단백질의 SDS-polyacrylamide gel 전기영동

탈지강 단백질의 분자량을 조사하기 위해 탈지강 분리 단백질을 조제하여 전기영동으로 측정하였다(Fig. 6). 그 결과, 61.3KDa, 43.8KDa, 29KDa, 21.1KDa의 4개 band를 확인할 수 있었다.

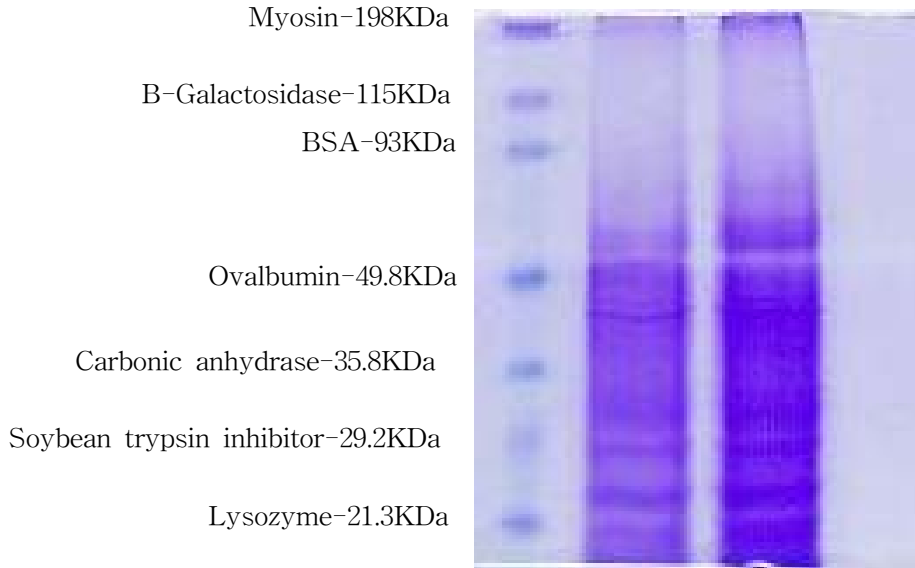


Fig. 6. SDS-PAGE of rice bran protein concentrate for determination of molecular weight.

사. 탈지강 단백질 필름의 두께

탈지강 단백질 필름을 가소제와 단백질 변형에 따라 제조하여 필름의 두께를 측정한 결과는 Table 4와 같았다.

| | 가소제 | | Modification | | |
|--------------------|----------|----------|--------------|----------------|--------------|
| | glycerol | sorbitol | acetylated | phosphorylated | succinylated |
| Film thickness(mm) | 0.1785 | 0.1824 | 0.2057 | 0.1941 | 0.2101 |

Table 4. Thickness of rice brain protein films

가소제만을 사용한 필름보다 단백질 변형에 따라 제조한 필름의 두께가 0.0228mm정도 더 두꺼웠다. 이는 단백질 변형에 의해 증가된 코팅액의 점도에 의한 영향인 것으로 생각된다.

아. 탈지강 단백질 필름의 수분 투과도

탈지강 단백질 필름으로 봉한 투습컵을 향한 항습기에서 1시간 간격으로 무게를 측정하여 그 차이를 백분율로 나타내었다. 가소제 종류와 농도에 따른 필름의 투습도 변화는 Fig. 7과 8과 같았다.

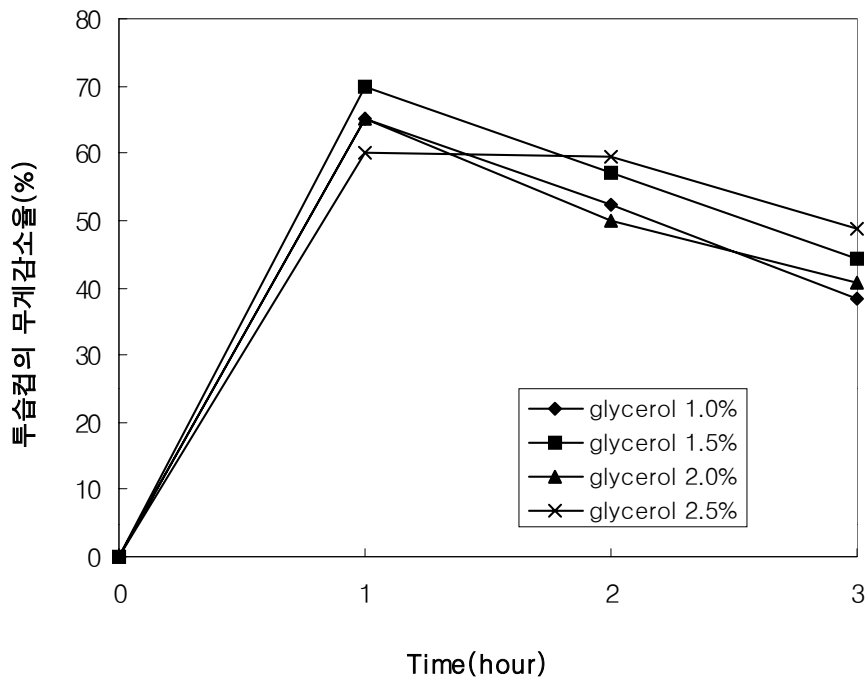


Fig. 7. Water vapor permeabilities (WVP) of rice brain protein films with various contents of glycerol.

Glycerol를 첨가하여 제조한 필름은 glycerol농도에 따른 투습컵의 무게 감소율의 큰 차이는 없었으며, 시간이 흐를수록 투습컵의 무게 감소율이 낮아졌다. 또한 glycerol 2.0%를 첨가한 필름이 3시간 후 전체 투습컵 무게 감소율이 155.7%로

가장 낮았다. Sorbitol를 첨가하여 제조한 필름 중 sorbitol 1.0%, 1.5%는 신연성

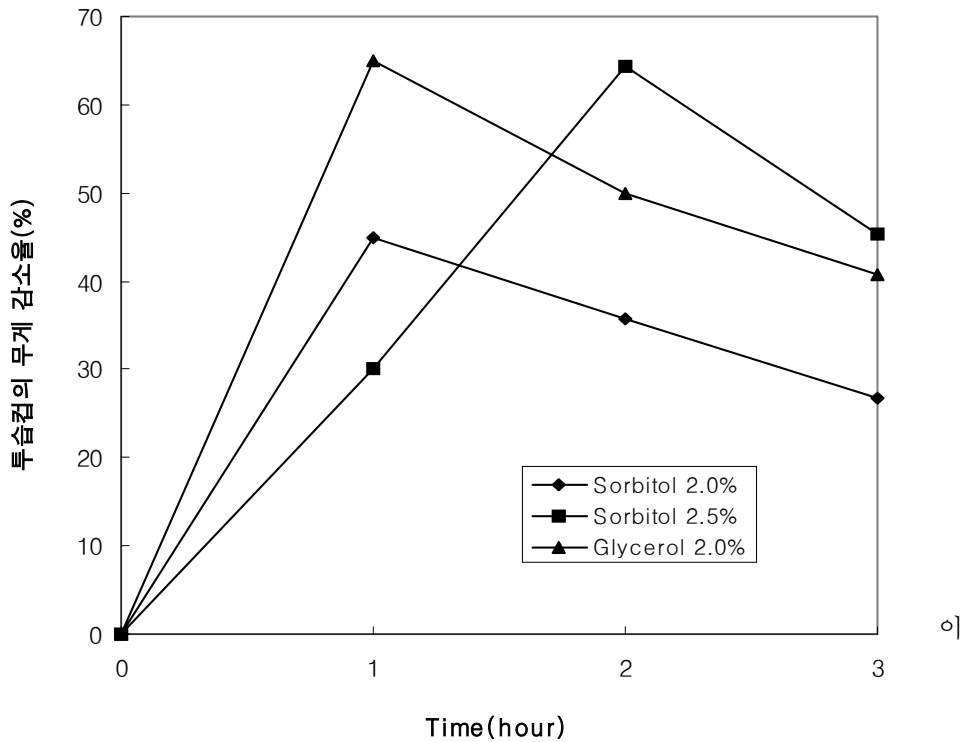


Fig. 8. Water vapor permeabilities (WVP) of rice brain protein films with various contents of sorbitol.

너무 낮아 투습컵에 설치가 불가능하여 필름의 투습도 변화를 측정할 수 없었다. 또한 glycerol은 첨가 농도에 따라 투습컵의 무게 감소율 차이가 크지 않은 반면에 sorbitol은 2.0%, 2.5%의 투습컵의 무게 감소율 차이가 큰 편이었다. 가소제의 종류와 농도에 따른 필름의 수분 투습도 변화에서는 sorbitol 2.0% 첨가한 필름이 3시간 후 전체 투습컵 무게 감소율이 가장 낮았으며(107.4%), 2시간 후부터는 모든 필름의 투습컵의 무게 감소율이 감소하는 것으로 나타났다. 단백질 변형에 따른 필름의 수분 투습도 변화를 살펴보면, 먼저 acetylation은 농도에 따라서 투습컵의 무게 감소율 차이가 컸으며, acetic anhydride 1.0%를 첨가한 필름이 3시간 후 전체 투습컵의 무게 감소율이 120.8%로 가장 낮았다(Fig. 9). Phosphorylation시킨 필름의 수분 투습도 변화는 Fig. 10과 같이 단백질 변

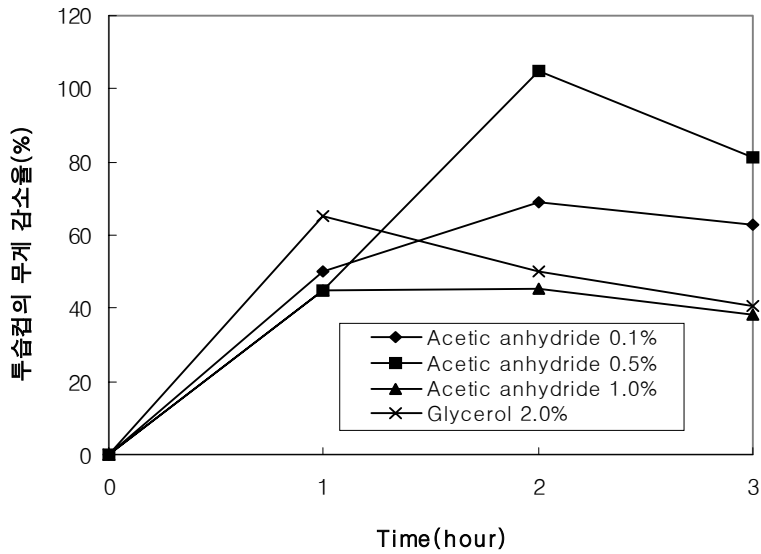


Fig. 9. Water vapor permeabilities (WVP) of rice brain protein films with various contents of acetic anhydride.

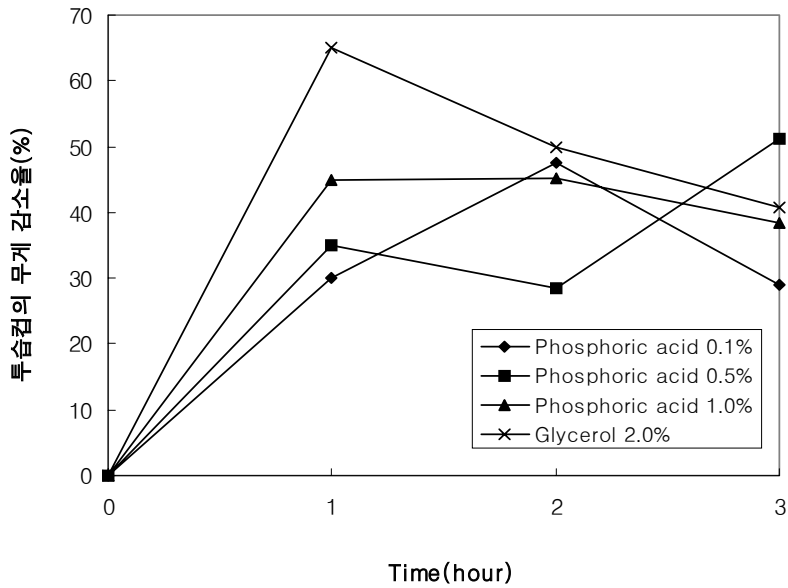


Fig. 10. Water vapor permeabilities (WVP) of rice brain protein films with various contents of phosphoric acid.

형을 시키지 않은 필름의 3시간 후 전체 투습컵의 무게 감소율은 155.7%인데 비해 phosphoric acid 0.1%, 0.5%, 1.0% 첨가한 필름의 전체 투습컵 무게 감소율은 각각 106.7%, 114.8%, 128.6%로 특히 phosphoric acid 0.1% 첨가한 필름의 값이 가장 낮았다. 또한 phosphoric acid의 첨가 농도가 높을수록 투습컵의 무게 감소율은 증가하였다.

반면에 succinylation시킨 필름의 수분 투습도 변화는 phosphoriylation시킨 필름의 수분 투습도 변화와 상반된 양상을 나타내었다. Succinic anhydride 첨가농도가 높을수록 3시간 후 전체 투습컵의 무게 감소율이 감소하였다(Fig. 11).

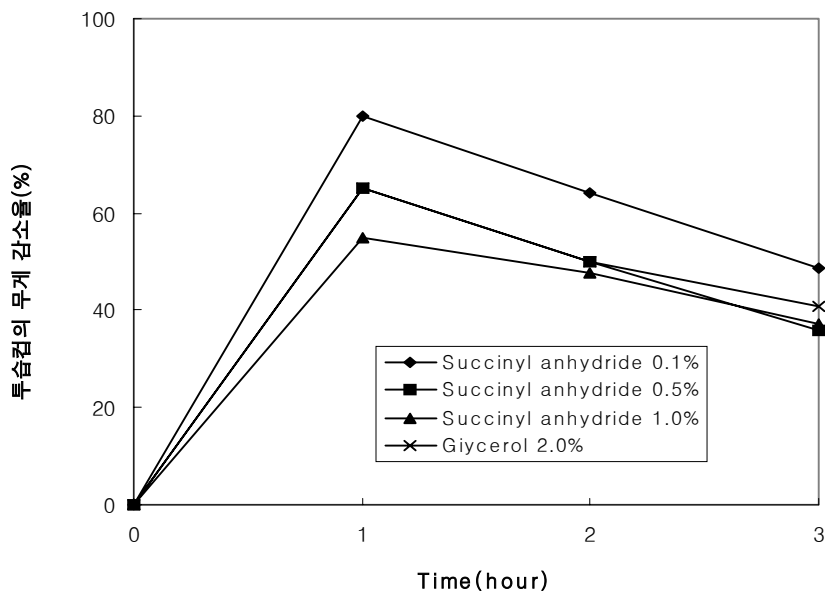


Fig. 11. Water vapor permeabilities (WVP) of rice brain protein films with various contents of succinic anhydride.

자. 탈지강 단백질 필름의 산소 투과도

탈지강 단백질 필름의 산소 투과도를 측정한 결과는 Table 5와 같다. 가소제를 glycerol과 sorbitol를 첨가한 필름의 산소 투과도는 각각 $2,562 \text{ cm}^3/24\text{hr} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{atm}$, $2,174 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \cdot 24\text{hr} \cdot \text{atm}$ 이었다. 단백질 변형 따른 각 필름의 산소 투과도는 acetylation된 필름이 가장 낮았고 그 다음 succinylation, phosphorylation의

순이었다. 그러나 단백질에 변형을 가한 필름의 산소 투과도가 단백질에 변형을 가하지 않은 필름보다 모두 낮았으며 단백질에 변형을 가한 필름 간의 산소 투과도 차이는 크지 않았다. 송태희와 김철재(1999)는 methy cellulose와 hydroxyprophy cellulose의 산소 투과도가 각각 $2,619 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \cdot 24\text{hr} \cdot \text{atm}$ 와 $9,600 \sim 18,000 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \cdot 24\text{hr} \cdot \text{atm}$ 라고 보고하였다. 본 실험에서는 cellulose 필름에 비해 6배 정도 두꺼운 필름을 사용하였으나, hydroxyprophy cellulose에 비해서는 투과도가 낮은 것으로 생각된다.

Table 5. Oxygen permeabilities of rice bran films

| Films | Thickness (mm) | O ₂ Permeability (ml /m ² · 24hr · atm) |
|---------------------|----------------|---|
| Sorbitol-containing | 0.703 | 2,174 |
| Glycerol-containing | 0.685 | 2,562 |
| Succinylated | 0.602 | 1,949 |
| Phosphorylated | 0.585 | 2,144 |
| Acetylated | 0.680 | 1,727 |

차. 탈지강 단백질 필름의 인장강도 및 신장율

탈지강 단백질 필름을 단백질 변형에 따른 특성과 가소제 종류 및 농도에 따른 필름의 물리적 특성을 인장강도 및 신장율을 측정하여 관찰하였다. 가소제에 따른 인장강도의 차이는 Fig. 12와 같이 glycerol보다는 sorbitol을 첨가한 필름의 인장강도가 컸으며, glycerol은 2%, sorbitol은 1.5% 첨가한 것이 인장강도가 각각 높았다.

반면에 단백질 변형에 따른 필름의 인장강도를 측정한 결과(Fig. 13) 단백질 변형을 시킨 필름 중에서는 phosphorylation한 것이 aetylation, succinylation에 비해 인장강도가 큰 편이었고, acetylation, succinylation은 인장강도가 서로 비슷했다. 각 modification의 농도별 인장강도는 모두 1.0% 첨가한 것이 가장 높았다.

필름의 신장율에 대한 첨가 가소제의 영향은 Fig. 14와 같았다. 가소제로 glycerol을 사용한 필름의 신장율이 sorbitol을 사용한 필름보다 다소 높은 경향

Fig. 12. Effects of plasticizers on tensile strengths of rice bran films.

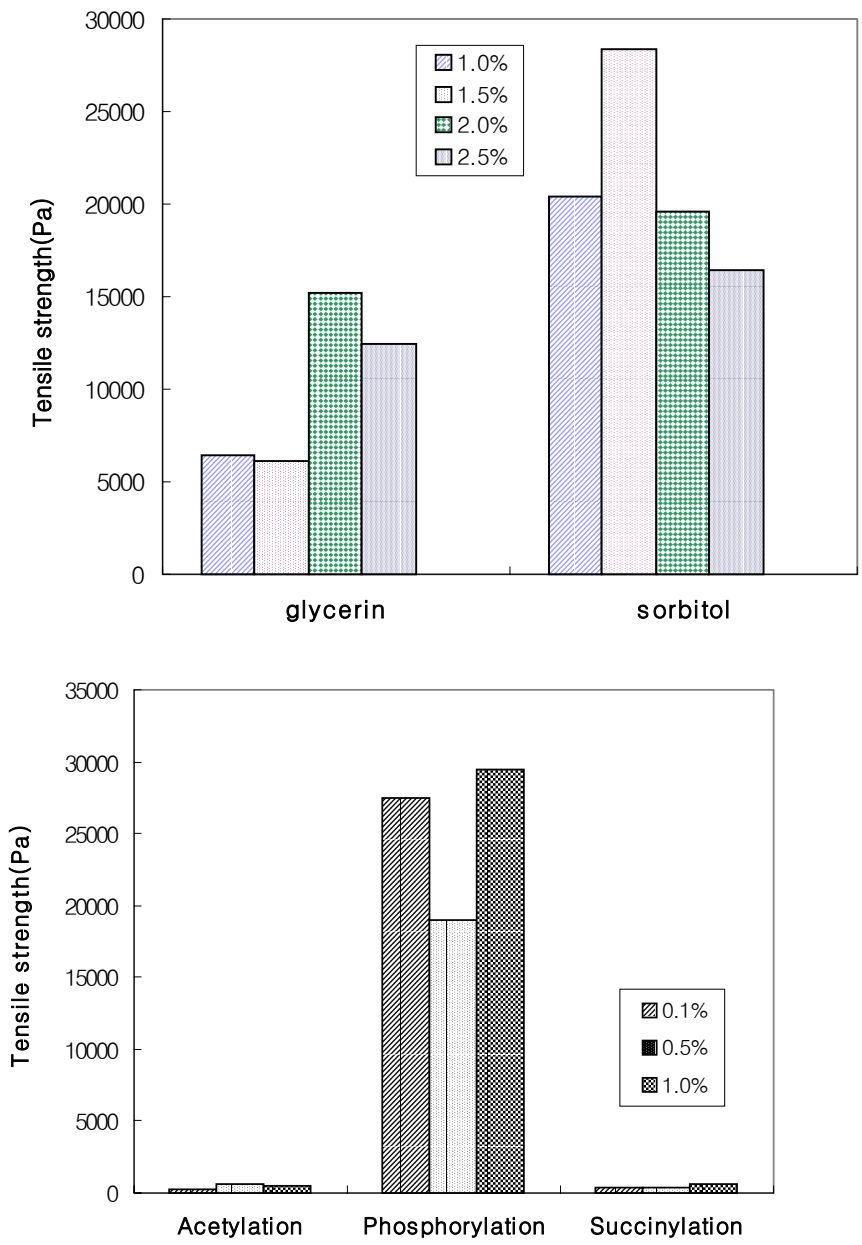


Fig. 13. Tensile strengths of modified rice bran films.

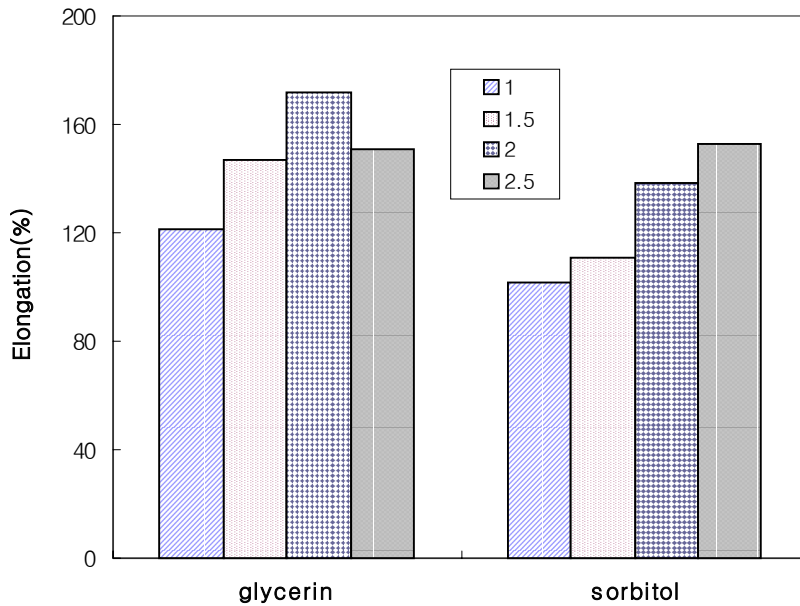


Fig. 14. Effects of

plasticizers on tensile strengths of rice bran films.

을 나타내었으나 의미있는 차이는 발생하지 않았다. Sorbitol을 첨가한 필름은 농도가 증가할수록 신장율도 증가하였고 glycerol을 사용한 필름은 2%첨가 시 가장 높은 신장율을 나타내었다. 또한, 필름의 신장율에 대한 단백질변형의 영향을 측정된 결과 필름의 신장율은 단백질 변형에 큰 영향을 받지 않고 비슷한 값을 보였으나, 그 중 1% acetic anhydride를 첨가하여 제조된 필름의 신장율이 가장 큰 것(180%)으로 나타났다(Fig. 15).

2. 대두박으로부터 isoflavone 추출의 최적화 및 분석

불린 콩의 대두박, 탈지된 대두박, 생콩에서 isoflavone을 추출한 결과, 생콩에서 96.4ppm, 탈지된 생콩에서 42.91ppm, 대두박에서 226.78ppm의 isoflavone 용액이 추출되었다. 모든 시료에서 isoflavone의 추출률은 낮았으나 그 중 대두박에서 가장 많은 양의 isoflavone이 추출되었고 가장 경제적이므로 탈지강 단백질 film을 제조할 때는 대두박에서 추출한 것을 사용하였다.

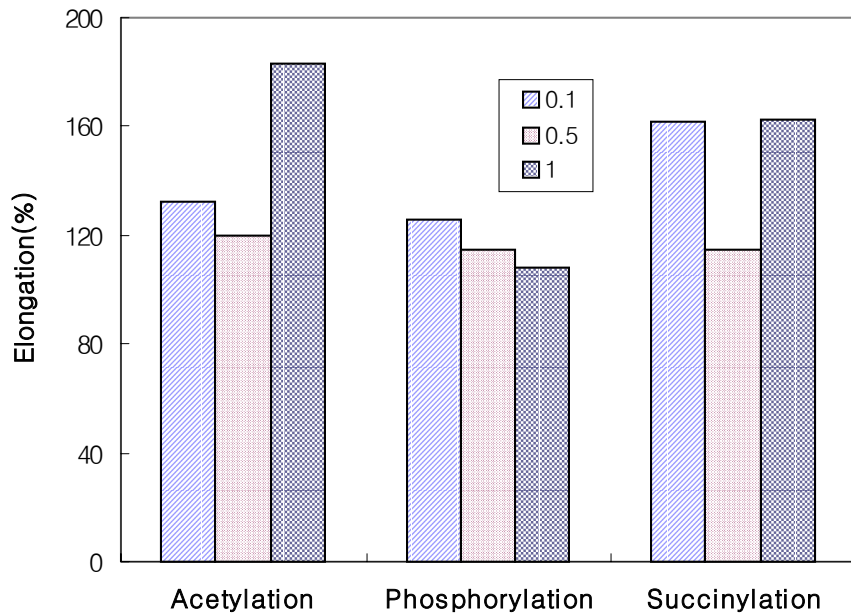


Fig. 15. Percent elongations of modified rice bran films.

HPLC 분석 시에 사용하였던 isoflavone 농축액을 hexane과 1:1로 층 분리한 후에 hexane층을 제거하고 다시 ethylacetate와 1:1로 층 분리한 후 ethylation층을 농축하여 이를 isoflavone 용액으로 사용하였다. 이 isoflavone 추출용액 내의 순수 isoflavone함량은 29%였다, 탈지강 단백질 film 제조 시 단백질 추출용매 전체 용액의 2%에 해당하는 isoflavone 용액을 ethanol에 섞어 첨가하였다.

제조된 탈지강 단백질 코팅쌀 10g을 500ml의 증류수에 넣고 isoflavone 분석 방법과 동일하게 추출, 여과, 농축, 희석하여 HPLC로 분석한 결과 10g의 코팅쌀에서 22.6mg의 isoflavone이 존재하는 것으로 나타났다. 비록 약간의 isoflavone 손실은 있었으나 film을 제조하여도 대부분의 isoflavone이 소실되지 않고 코팅쌀로 이행됨을 확인할 수 있었다.

3. Bacteriocin을 이용한 탈지강 단백질 코팅제의 저장성 향상

가. Bacteriocin 생성 균주 탐색 및 선발

쌀에 존재하는 *Bacillus* sp.와 *Pseudomonas* sp. 9종을 spot-on-lawn 방법을 이용하여 항균 활성을 조사한 결과 9종 중 8종이 항균 활성을 보였으며 그 중 *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas methanolica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus macerans* 등 5종이 광범위한 항균 활성을 나타내었으며, 특히 *Pseudomonas putida*와 *Bacillus macerans*이 광범위하면서도 강한 항균활성을 보였다(Table 6).

Table 6. Selection of bacteriocin producer in rice bran (spot-on-lawn method)

| Bacteriocin Indicator | <i>Pseu. aeruginosa</i> | <i>Pseu. putida</i> | <i>Pseu. methanolica</i> | <i>Pseu. fluorescens</i> | <i>Bac. subtilis</i> | <i>Bac. macerans</i> | <i>Bac. cereus</i> | <i>Bac. megaterium</i> |
|------------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|----------------------------|
| <i>E. coli</i> | + | +(19mm) | + | + | + | +(20mm) | + | |
| <i>Pseu. aeruginosa</i> | | +(16mm) | | + | | | | |
| <i>Pseu. putida</i> | + | + | + | + | | + | | |
| <i>Pseu. methanolica</i> | | | | | | | | |
| <i>Pseu. fluorescens</i> | + | + | +(18mm) | +(13mm) | + | +(16mm) | + | |
| <i>Bac. subtilis</i> | + | +(27mm) | +(18mm) | + | | + | | |
| <i>Bac. macerans</i> | | + | + | | | +(17mm) | | |
| <i>Bac. cereus</i> | + | +(19mm) | + | +(14mm) | | + | | |
| <i>Bac. megaterium</i> | + | | | | +(13mm) | | +(14m) | |

이들 5종의 균주를 다시 modified deferred 방법에 의해 bacteriocin 활성을 조사하였다. 그 결과 *Pseudomonas putida*를 제외한 균주들은 탈지강 고체 배지에 30℃, 3

6°C에서 33시간 배양했을 경우 잘 자라지 않으며 48시간 배양 시 낮은 항균력을 보였다. Kim은 *Pseudomonas aeruginosa* 90-2-2205를 Nutrient agar 배지를 이용한 modified deferred 방법에서 항균활성을 보인다고 보고하였으나 본 실험에서는 *Pseudomonas putida*를 제외한 *Pseudomonas* sp.는 탈지강 고체 배지에서 항균활성을 보이지 않았다. De Vuyst와 Vandamme은 젖산균 중 bacteriocin 생산 균주의 빈도가 연구자마다 크게 다른 것에 대해 이러한 불일치는 bacteriocin 생산 균주의 확인이 전적으로 시험균에 달려있기 때문이라고 했다. 따라서 본 연구에서 bacteriocin 활성 조사를 위한 시험균의 선정 시 탈지강 단백질 코팅제의 저장성 향상을 위한 bacteriocin 선별임을 감안하여 쌀에 존재하며, 토양에 오염될 수 있는 시험균으로 선정하였다. Bacteriocin은 항균물질 생성 균주 자신과 계통, 분류학적으로 근접한 균종으로 항균 활성을 나타내는 것과 같이 modified deferred 방법으로 실험한 결과는 *Pseudomonas* sp.에 모두 항균력을 나타내었다. Spot-on-lawn 방법으로 실험한 결과 *Pseudomonas methanolica*를 제외한 *Pseudomonas* sp.에 항균력을 보이며, *Bacillus* sp.에도 항균 활성을 나타내며, 특히 *Bacillus subtilis*에 27 mm로 큰 항균활성을 나타내었다(Table 7).

Table 7. Antimicrobial spectrum of *Pseudomonas putida*

| Organism | Culture medium | Incubation temp | Modified-deferred method | Spot-on-lawn method |
|--------------------------------|------------------|-----------------|-------------------------------|---------------------|
| | | | Inhibition zone diameter (mm) | Inhibition |
| Gram-negative bacteria | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | TSB ^a | 37°C | 13 | +(19 mm) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | TSB | 37°C | 24 | +(16 mm) |
| <i>Pseudomonas methanolica</i> | TSB | 26°C | 19 | |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | TSB | 26°C | 13 | + |
| Gram-positive bacteria | | | | |
| <i>Bacillus subtilis</i> | TSB | 30°C | | +(27 mm) |
| <i>Bacillus macerans</i> | TSB | 30°C | | + |
| <i>Bacillus cereus</i> | TSB | 30°C | 14 | +(19 mm) |
| <i>Bacillus megaterium</i> | TSB | 30°C | | |
| <i>Micrococcus luteus</i> | TSB | 30°C | 12 | +(12 mm) |

^aTSB; Tryptic soy broth

이러한 대상 균주에 대한 항균 효과가 modified-deferred 방법과 spot-on-lawn 방법으로 실험한 결과가 차이를 보이는 것은 본 연구의 *Pseudomonas putida* 21025가 생산하는 항균물질이 bacteriocin 외에도 bacteriophage나 H₂O₂와 같은 물질이 항균 효과에 기여하기 때문이라 판단된다. 따라서 광범위하면서도 강한 항균활성을 나타내는 *Pseudomonas putida*를 시험균로 선정하였으며 *Bacillus cereus*를 대상균주로 선정하여 modified-deferred 방법과 spot-on-lawn 방법을 이용하여 항균 활성을 조사하여 Fig. 16, 17에 나타내었다.



Fig. 16. Antimicrobial activity of *Pseudomonas putida* by the spot-on-lawn assay.



Fig. 17. Bacteriocin activity of *Pseudomonas putida* by the modified-deferred method.

나. Bacteriocin 생성의 최적 배양조건

1) 초기 pH에 따른 영향

균주가 bacteriocin을 생성하는데 있어 pH의 영향을 조사하기 위하여 탈지강 액체배지를 1 N NaOH와 1 N HCl을 이용하여 pH 3.0에서 pH 9.0까지 조절하였다. *Pseudomonas putida* 21025 균주를 접종하여 30°C, 33시간 배양한 후 균의 생육과 항균활성을 조사하였다. 결과 Fig. 18과 같이 pH 5 이상에서부터 균이 증식하여 pH 6.0과 pH를 조절하지 않은 pH 6.48의 탈지강 액체배지에서 균의 생육과 활성이 가장 높았고 pH 7.0~8.0에서 균의 증식이 반으로 감소하였다.

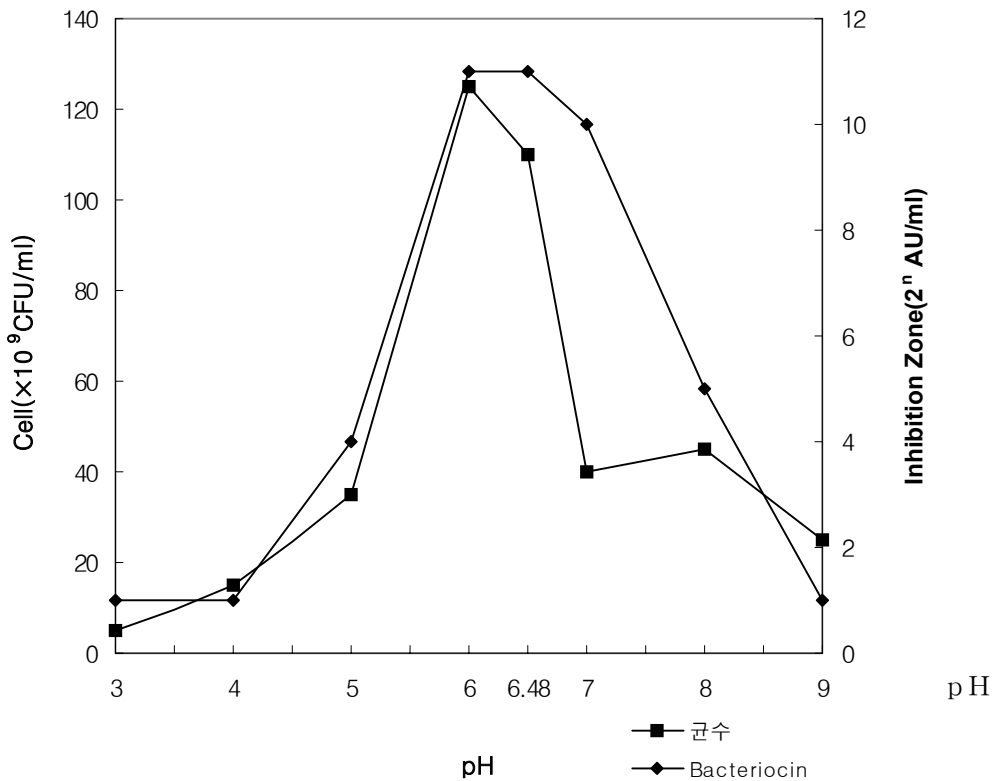


Fig. 18. Effects of initial pH on bacteriocin production.

3.0과 pH 9.0에서의 bacteriocin의 항균 활성은 2⁰은 항균환이 크게 나타나지만 2¹부터 항균환이 보이지 않는 것으로 보아 항균력이라기 보다는 pH에 의한 균의

활성 저하로 보인다. 또한 선발 균주 성장에 따른 탈지강 배지의 pH를 측정 한 결과 6.40~6.89로 큰 변화를 보이지 않았다.

Kim의 *Pseudomonas aeruginosa* 90-2-2205에 대한 보고에서는 pH 5.0 이상에서부터 균이 증식하여 pH 7.5에서 균의 생육과 활성이 가장 높았고 pH 7.0과 pH 8.0에서 균의 증식이 반으로 줄어들어 pH에 대한 생육과 활성이 특정적으로 좁은 경향을 볼 수 있었다. 본 연구에서는 Kim의 연구결과에 비해 pH 6.0~7.0까지 비교적 넓은 범위의 pH에서 생육과 활성이 높은 것으로 나타났으며, 이는 탈지강의 pH를 생각할 때 바람직하다고 볼 수 있다.

2) 배양온도에 따른 영향

Pseudomonas putida 21025가 bacteriocin을 생성하는데 미치는 배양온도의 영향을 조사한 결과 Fig. 19와 같았다.

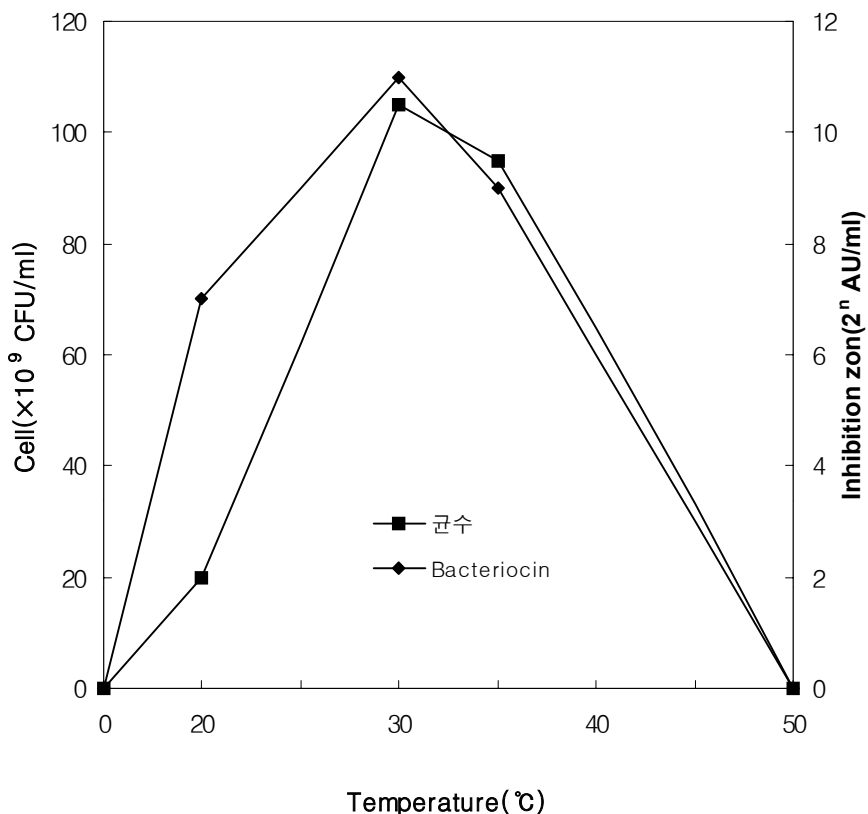


Fig. 19. Effects of temperature on bacteriocin production.

토양미생물인 본 균의 배양온도인 30℃에서 균의 생육과 bacteriocin의 항균 활성이 가장 높았다. 37℃에서도 생육과 항균활성이 양호하게 나타났으며, 50℃ 이상에서는 균이 거의 자라지 못하였다.

다. *Pseudomonas putida*의 증식에 따른 항균 활성

배양시간에 따른 균체량과 bacteriocin 생성 정도를 조사하기 위한 방법으로 탈지강 액체 배지 부유물질 때문에 spectrophotometer를 이용할 수 없어 생균수 측정법을 사용하였다.

Fig. 20과 같이 33시간 배양 후 bacteriocin의 항균 활성이 가장 높았으며, 24시간 배양 후 균의 생육이 좋았다.

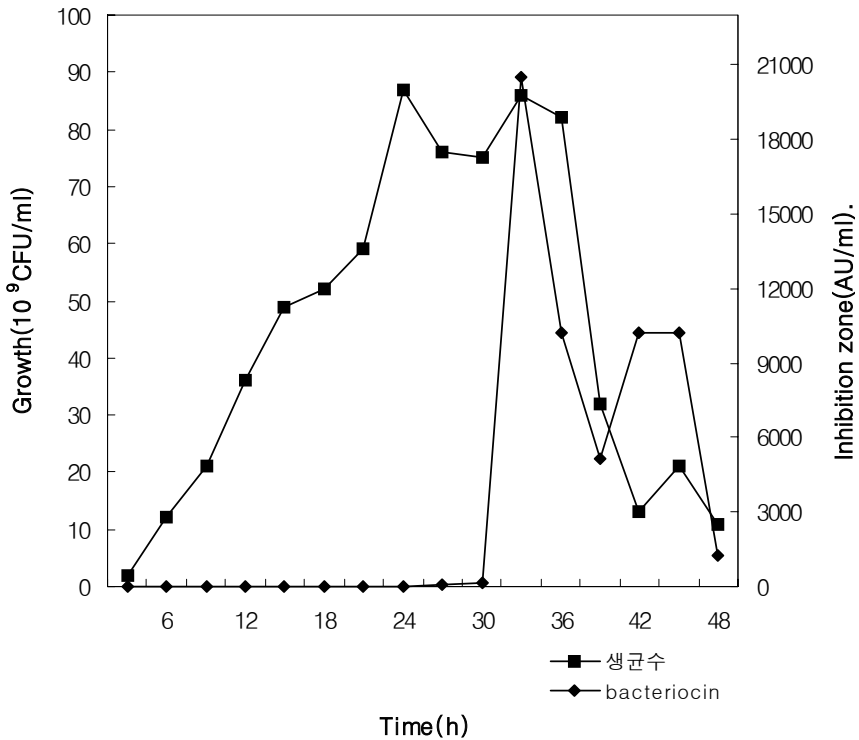


Fig. 20. Growth of *Pseudomonas putida* 21025 and production of bacteriocin.

Kim, Yoo, Paik 등의 연구에서의 공시 균주들은 TSB 또는 MRS 액체배지에서 배양시 12~24시간 이내에 bacteriocin을 생성하나 본 연구의 탈지강 배지에서는 33시간 배양 후 bacteriocin을 생성하였으며 36시간 이후 bacteriocin의 활성이 반으로 감소하는 것을 볼 수 있었다. 거칠게 마쇄한 탈지강 사용 시 48시간 이후에 bacteriocin을 생성하였고 곱게 마쇄한 탈지강 사용 시 33시간 이후 bacteriocin을 생성하였다. 이는 탈지강 안에 들어있는 균이 생육하기 위한 탄소원과 질소원등이 액체배지에 용출되는 속도가 느리기 때문이라고 생각된다.

라. 온도, pH, 유기용매에 대한 안정성

1) 온도에 대한 안정성

제공한 배양액에 있는 항균성물질인 bacteriocin의 열에 대한 안정성을 조사하기 위해 각각의 온도에서 시간에 따른 잔존 활성을 측정하였다. Fig. 21과 같이 제공한 배양액은 25℃, 30℃, 40℃에서는 안정하였고 50℃~70℃에서는 1시간동안 활성이 다소 떨어졌으며 90℃ 이상에서는 활성이 나타나지 않았다.

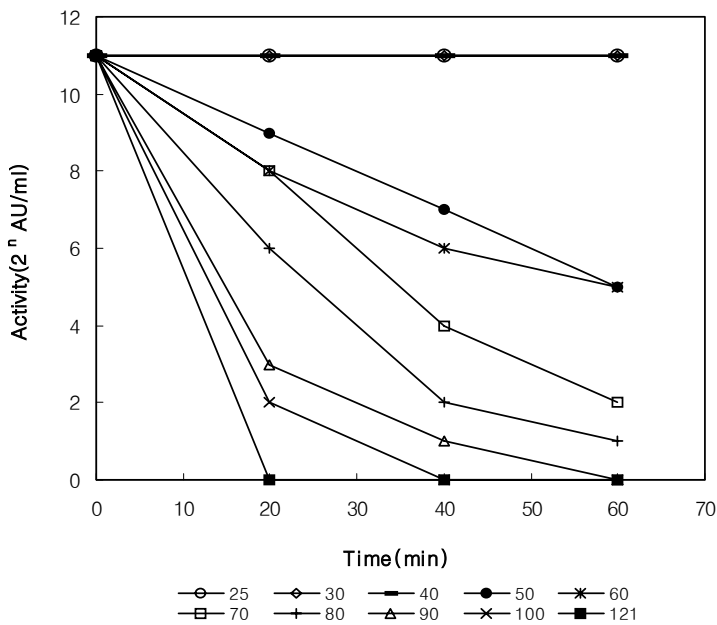


Fig. 21. Heat stability of bacteriocin.

Paik 등의 연구에서도 bacteriocin의 활성이 40℃에서는 안정하나 40℃ 이상부터는 활성이 감소하는 것으로 나타났다. 그러나 Hyronimus의 연구에서는 각각의 온도에서 15분간 처리시 60℃까지 활성이 일정하게 나타났다. 또한 25℃에서의 활성실험은 탈지강 단백질 코팅제 건조 시 온도를 고려하려 행하였으며 이 온도 범위에서는 활성이 안정한 것을 볼 수 있었다.

2) pH에 대한 안정성

제공한 배양액의 pH에 대한 안정성을 조사하기 위하여 pH가 각각 다른 용액을 첨가하여 4℃에서 3시간 저장하여 항균 활성을 측정된 결과 Fig. 22와 같이 나타났다. 1시간 저장 시에는 활성이 안정하나 3시간 이상 저장 시 pH 3~5에서 활성이 떨어지는 것을 볼 수 있었다. 그러나 활성이 큰 폭으로 떨어지는 것은 아니므로 pH에 대한 영향은 크게 받지 않는 것으로 보인다. 탈지강 단백질을 추출할 경우 pH 9로 조절할 경우 bacteriocin에 큰 영향을 주지 않을 것으로 보인다.

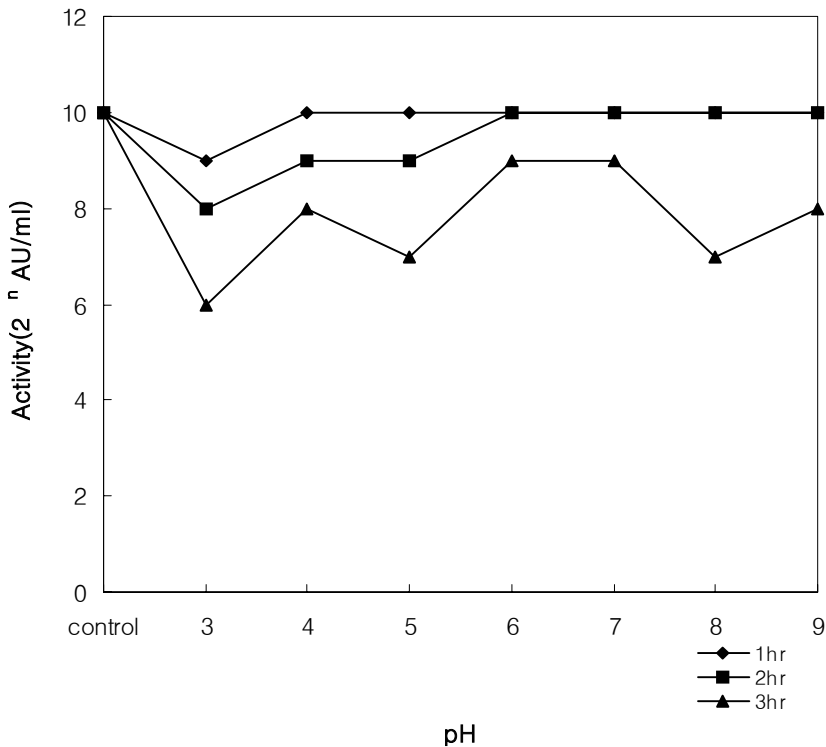


Fig. 22. pH stability of bacteriocin.

3) 용매에 대한 안정성

제공한 배양액에 용매에 대한 안정성을 조사하기 위하여 각각의 용매를 가하여 4℃에서 3시간 저장하여 항균활성을 측정된 결과 Fig. 23과 같이 나타났다. 헥산과 에탄올에서는 안정하나 톨루엔과 클로로포름에서는 활성이 크게 감소하였다. 단백질 추출시 이용되는 10% 에탄올엔 안정할 것으로 보인다. Paik 등의 *Bacillus sp.*에서 생성된 bacteriocin에 대한 연구에서는 톨루엔에서 안정하며 다른 용매에서 활성이 감소한다고 보고되었고, Hyronimus의 연구에서는 모든 용매에 안정한 것으로 보고되었다.

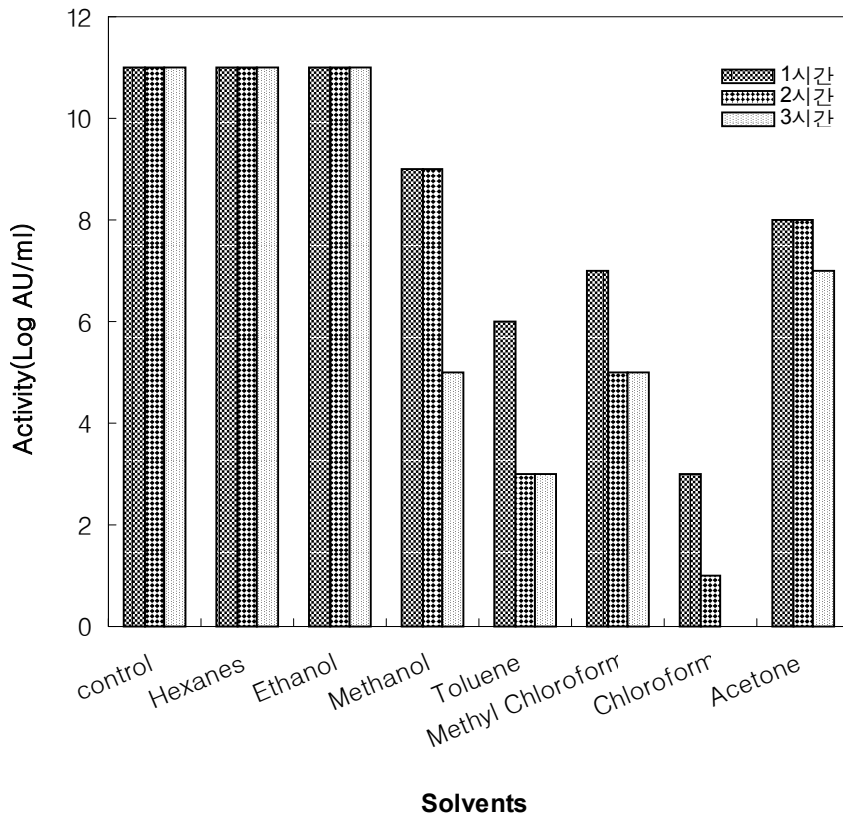


Fig. 23. Effects of solvents on stability of bacteriocin.

마. Bacteriocin의 SDS-polyacrylamide gel 전기영동

부분정제한 bacteriocin의 순도 및 분자량을 조사하기 위해 시료를 전기영동하였다. 실험결과 Fig. 24와 같이 약 21.6 kDa로 작은 분자량을 나타내었다. 이는 *Pseudomonas sp.*가 생성하는 bacteriocin을 조사한 결과 Ohkawa등이 보고한 pyocin S2의 분자량 12 kDa, Sano등이 보고한 pyocin AP41의 분자량 9 kDa보다 큰 21.6 kDa로 추정되었다. 그러나 Ito와 Kim 등은 pyocin의 분자량을 각각 100 kDa, 180 kDa로 거대한 분자로 보고하였다.

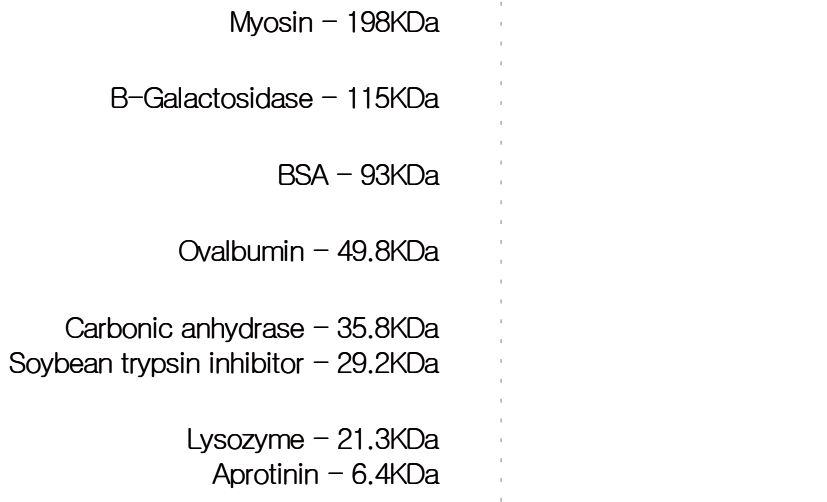


Fig. 24. SDS-PAGE of partially purified bacteriocin for determination of molecular weight.

바. Bacteriocin에 의한 탈지강 코팅제의 저장성 향상

탈지강 코팅제의 저장성을 조사하기 위하여 지시균과 제균배양액을 첨가하여 저장동안 단백질의 부패도를 보기 위해 아미노태 질소함량을 측정하여 Fig. 25에 나타내었다. 10% bacteriocin을 첨가한 코팅제는 8일째부터 아미노태 질소함량이 증가하지 않았으며, 5% bacteriocin은 12일째부터 아미노태 질소함량이 증가하지 않았다. 또한 bacteriocin을 첨가하지 않은 코팅제는 10% bacteriocin을 첨가한 코팅제에 비해 20일 저장 시, 90mg% 증가를 나타내었다.

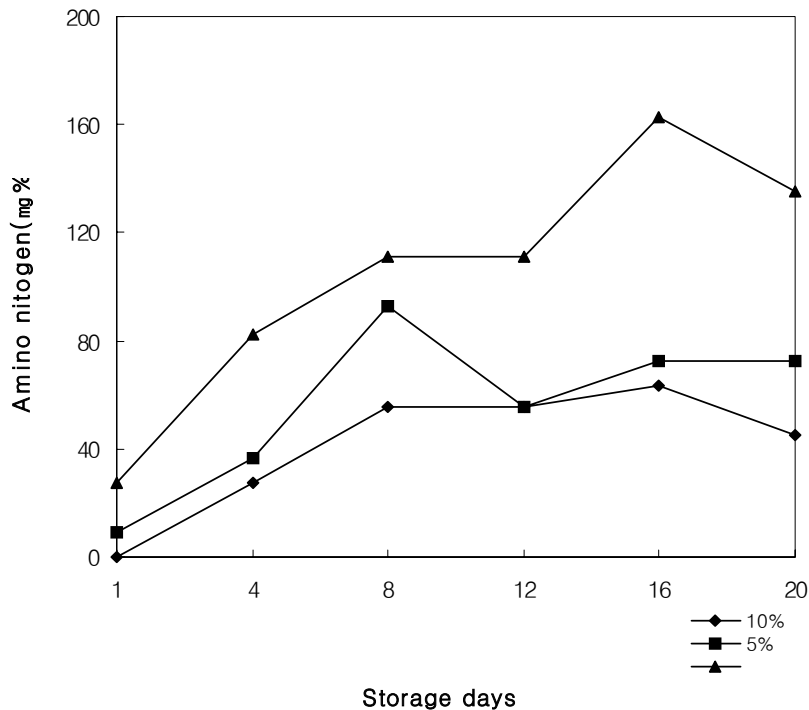


Fig. 25. Changes in amino type nitrogen contents in bacteriocin-containing films during storage.

사. Bacteriocin 함유 단백질 포장재의 식품의 방부효과

햄을 이용하여 탈지강 단백질 코팅제와 20% bacteriocin을 함유한 탈지강 단백질 코팅제의 방부효과를 조사하기 위해 햄에 임의적으로 균을 접종하여 그 균의 번식도를 조사하였다. Fig 26에 나타난 바와 같이 탈지강 단백질을 사용하지 않은 대조군은 균수가 급증하였고 bacteriocin을 함유하지 않은 탈지강 단백질 코팅제의 균수 증가율은 50%정도로, 이는 탈지강 단백질 코팅제가 햄의 수분을 차단하여 균의 증가를 감소시켰다.

한편 20% bacteriocin을 함유한 탈지강 단백질 코팅제는 균수의 증가율이 20%정도로 시험균에 대해 항균력을 나타내었다.

이와 같은 결과로 bacteriocin을 탈지강 단백질 코팅제에 첨가함으로써 항균효과를 높일 수 있음을 확인할 수 있었다.

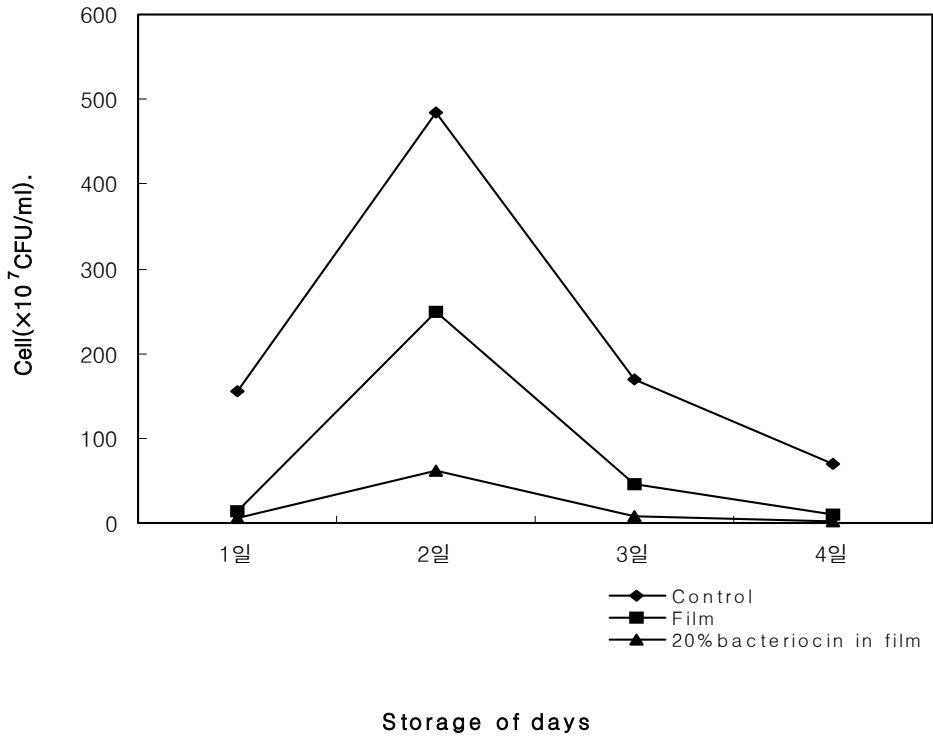


Fig. 26. Effect of bacteriocin-containing films on the bacterial growth in wrapped ham during storage.

4. 탈지강 단백질 코팅제로 코팅한 쌀의 저장성 및 이화학적 성질

코팅된 현미의 건조를 위해서는 기존의 곡물건조 장치(HB-503LF, Hanbaek Co.)를 이용하여 냉온건조(35℃)함으로서 목적을 달성할 수 있었으나, 10분도미에 있어서는 코팅 후, 건조과정에서 checking현상(미립에 금이 가는 현상)이 발생하여 쌀의 품질이 크게 낮아졌다. 이러한 현상은 미립전체의 수분함량의 불균형으로 인한 수축도의 차이에서 오는 현상으로 생각되며, 정도의 차이는 있었으나 건조 온도에 상관없이 공히 발생하였다. 그러나 실험실에서 마이크로파를 이용한 건조 시, 10분도미의 checking현상은 효과적으로 억제되었으며 코팅미의 건조도 신속히 발생하였다. 본 연구에서는 pilot-plant에서 생산된 코팅현미를 시료로 하여

분석실험이 이루어졌다. 백미를 대상으로 한 연구는 마이크로파 건조장치의 개발에 의해 향후에 이루어질 수 있을 것이다.

가. 중량감소율(%)

코팅쌀의 저장기간 동안의 중량감소 변화를 측정된 결과 Fig. 27과 같이 5회 코팅한 쌀과 isoflavone을 첨가하여 코팅한 쌀은 저장기간 동안 중량 감소가 거의 일어나지 않았다. 한편, 저장 8주 후 중량 감소율이 가장 높았던 1회 코팅한 쌀은 0.28%로 대조구에 비해 1.2배 정도 높았으나, 전체적으로 중량 감소율이 1% 이하로 8주간의 저장기간 동안 중량감소율 변화는 매우 적었다. 1회 코팅한 쌀을 제외하고는 대조구에 비해 중량 감소율이 낮았기 때문에 탈지장 단백질 코팅액으로 쌀을 코팅함으로써 쌀의 중량감소를 방지할 수 있으리라 여겨진다.

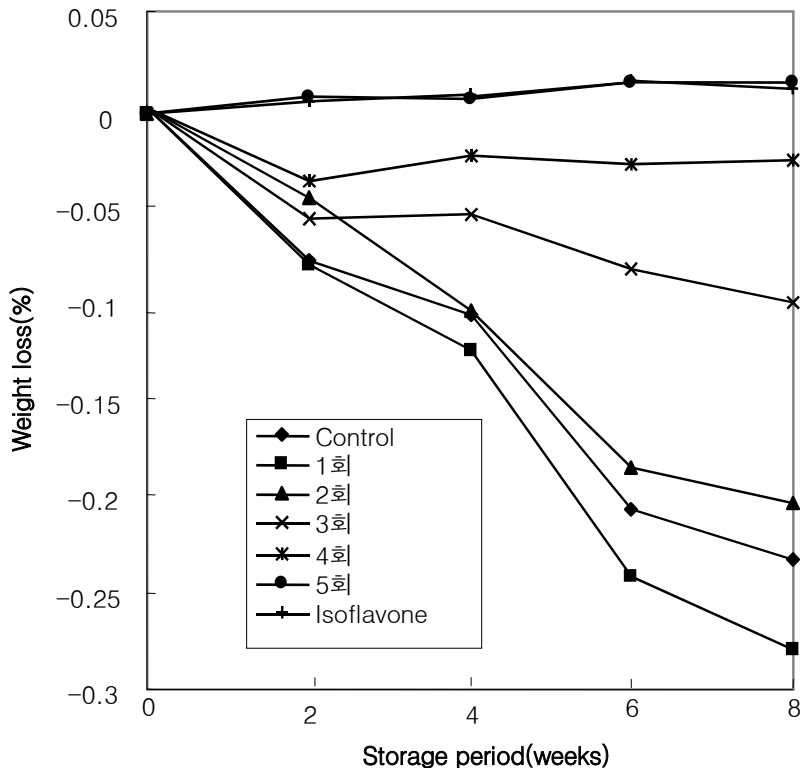


Fig. 27. Changes in weight of rices coated with rice bran protein during storages.

이세은 등(2001)에 의하면 백미의 경우, 포장재별로 저장 4주 후 중량 감소율이 7.8%(지대구 경우), 1.2%(AL 경우)값을 보인데 반해 본 실험에서 저장 8주 후 중량 감소율이 0.28%로 큰 차이를 보였다. 이는 백미에 비해 현미는 도정을 하지 않았기 때문에 중량 감소율이 훨씬 적은 것으로 생각된다.

이러한 중량감소는 쌀의 건조에 의한 밥맛의 저하를 가져오며 많은 중량손실은 저장 중 경제적인 손실까지 수반하게 된다. 그런 측면을 고려해 볼 때 쌀에 탈지강 단백질 코팅액을 코팅하여 저장함으로써 식미뿐 아니라 경제적 이점까지 얻을 수 있으리라 생각된다.

나. 저장기간 중의 pH 변화

코팅쌀의 pH는(Fig. 28) 저장 2주 후에 증가하였다가 저장 4주 후에 다시 감소하다가 저장 6주 후에 다시 증가하였다. 대조구, 1회, 2회 코팅한 쌀의 pH는 저장 4주 후에 거의 비슷하게 나타났으며, 가장 낮은 pH값(pH 7.42)을 보였다.

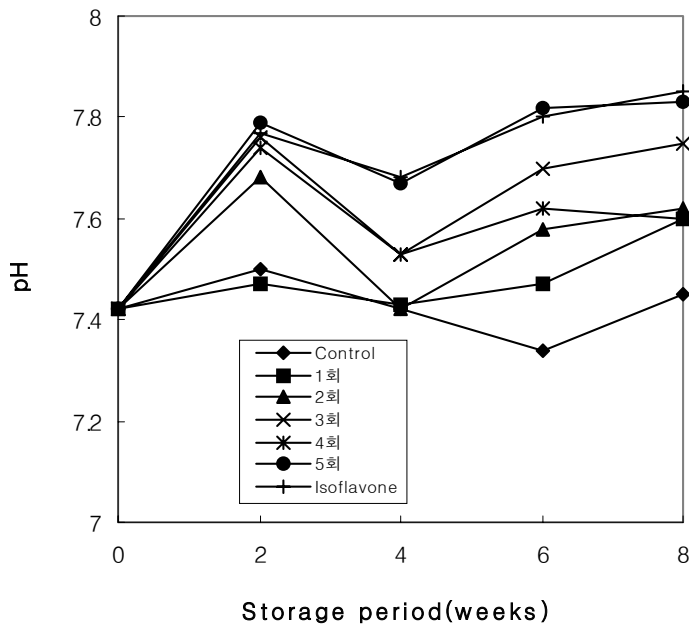


Fig. 28. Changes in pH of coated rices during storages.

Shibuya et al.(1974)은 고미화가 진행됨에 따라 pH가 감소하며 이는 지방의 가수분해로 인해 생성된 유리지방산의 영향이라고 하였고 취반액의 pH는 취반 후의 밥맛과 관계된다고 보고하였다. 소규호 등(2000)은 저장 미곡의 취반액의 pH는 입고 시와 5년 저장 후가 비슷하여 저장에 따른 pH 변화는 없었다고 보고하였다. 본 실험에서도 pH의 변화가 7.42~7.83으로 큰 변화는 없었으나, 대조구는 저장 6주 후까지 감소한 것으로 보아 탈지장 단백질 코팅액을 쌀에 코팅함으로써 저장 중 쌀의 pH 감소를 지연시켜 쌀의 식미저하를 막을 수 있으리라 생각된다.

다. 저장기간 중 과산화물가(Peroxide value)의 변화

저장 중 코팅쌀의 과산화물가의변화를 측정 한 결과, 모든 시료에서 저장 6주 후까지는 과산화물가가 계속 증가하다가 저장 8주 후 다시 과산화물가가 감소하였다(Fig. 29).

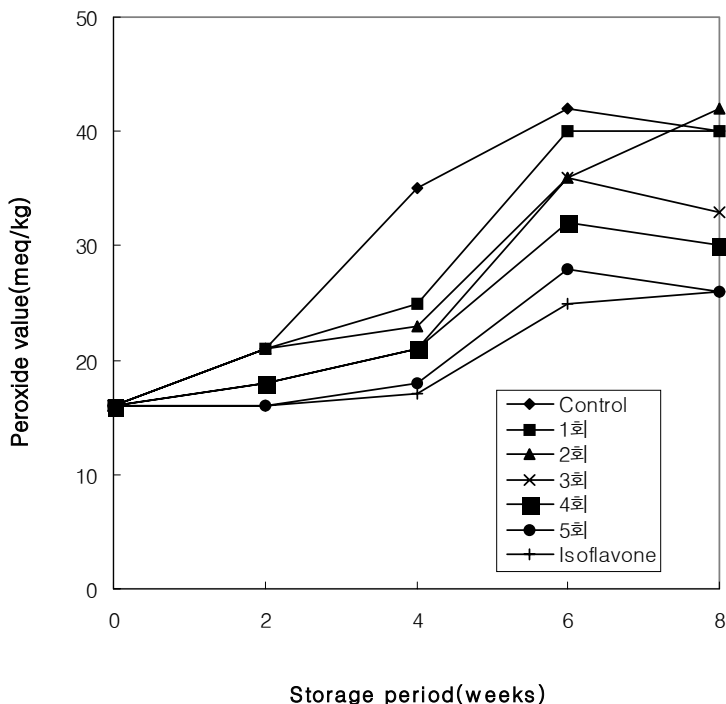


Fig. 29. Changes in peroxide values of coated rices during storages.

특히 대조구는 다른 시료와는 달리 저장 4주 후 과산화물가가 급격히 증가하였으며, 2회 코팅한 쌀의 과산화물가는 8주 후에도 42meq/kg으로 약간 증가하였다. 일반적으로 지질의 산화과정을 보면 초기에 생성된 과산화물이 계속 산화, 분해, 축합 또는 다른 화합물과 반응하여, 생성된 과산화물이 감소하게 되는데(Perkins, 1967; 金田尙志, 1972; Bidlack et al., 1972; Buttkus, 1967), 본 실험의 결과도 이와 같았으며, 이와 같은 산화과정이 쌀 저장 중에도 발생하고 있음을 알 수 있었다. 그러나 코팅 횟수가 증가할수록 저장동안의 과산화물가가 감소하였으며, 특히 isoflavone을 첨가하여 5회 코팅한 쌀의 과산화물가는 가장 낮았다. 이로써 탈지장 단백질 코팅액을 쌀에 코팅함으로써 저장 중 지방의 자동산화를 지연시킬 수 있음을 확인할 수 있었고, isoflavone의 첨가로 더 적극적으로 지방의 산화를 억제할 수 있었다.

라. 저장기간 중 산가(Acid value)의 변화

쌀의 저장 중 시간이 경과함에 따라 산가는 계속해서 증가하였으며 저장 8주 후에는 모든 시료의 산가는 감소하였다(Fig. 30). 대조구는 처음에는 산가가 4.7 mg KOH/100 g 이었으나 저장 6주 후에는 15.6 mg KOH/100 g 으로 약 3.3배 까지 증가하였고, 3회 코팅한 쌀은 2.3배 증가하였다. 반면에 5회 코팅한 쌀과 항산화제를 첨가하여 5회 코팅한 쌀은 저장 중의 산가의 변화가 거의 나타나지 않았다.

저장 중 지방산가의 증가는 취반 후 식미의 감소를 초래하게 되어 밥맛에 영향을 끼치게 된다. 이는 앞에서 실험한 저장 기간 동안의 pH 변화와 동일한 결과를 보인다. 즉, 대조구에 비해 탈지장 단백질을 코팅한 쌀이 저장 중에 지방의 가수분해를 억제함으로써 낮은 산가를 나타낸 것이다.

또한 대조구를 제외한 모든 시료가 저장 8주 후에 지방산가 적정 한계값인 15 mg KOH/100 g보다 낮았다. 이러한 결과로 보아 탈지장 단백질을 코팅한 쌀에 코팅하여 저장함으로써 2개월(8주) 동안은 취반미 식미의 저하를 억제할 수 있을 것으로 생각된다.

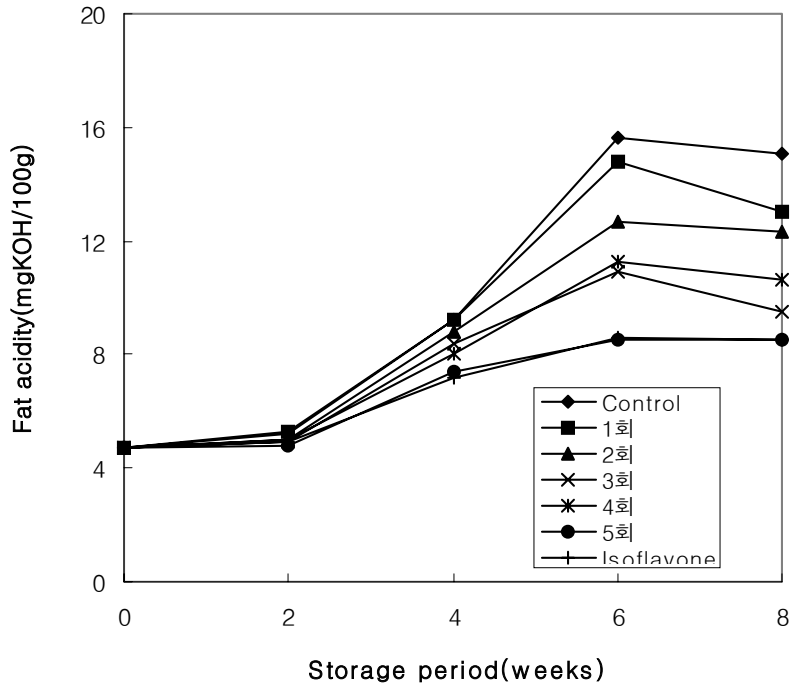


Fig. 30. Changes in acid values of coated rices during storages.

마. 코팅쌀의 물 결합력(Water binding capacity)

저장에 따른 쌀가루 시료의 물 결합력 변화를 비교한 결과는 Fig. 31과 같다. 물 결합력은 저장 초기에는 증가하였다가 저장 4주 후 다시 감소하는 현상을 보였으나 저장 6주 후 다시 증가하였다. 금준석 등(1996)의 연구 보고에 의하면 품종별 원료쌀의 물결합력을 측정된 결과 취반 후 수분함량이 가장 낮았던 동진 벼가 가장 낮았으며, Indudhara-Swamy 등(1978)와 Pushpamma and Reddy(1979)는 저장미의 물 결합력은 저장 1년까지는 증가하다가 그 후에는 점차로 감소하는 경향을 보였다고 보고하였다. 그러나 저장에 의해 쌀의 수분 흡수력이 증가했다는 상반되는 연구 결과도 보고 되었다(Chrastik, 1990). 본 실험에서는 쌀의 저장 기간이 8주로 다른 저장미에 비해 저장 기간이 짧았으므로 이러한 실험들과는 상이한 결과를 보인 것으로 여겨진다. 저장 기간이 증가할수록 물 결합능력이 감소하는 경향이 나타나는 것은 수분함량이 감소하는 데 따라 단백질과 지방 성

분들이 증가하여 물과의 결합력을 방해하는 것으로 보고 있다(Park, 1996). 본 실험에서 저장 4주 후까지의 물 결합력을 살펴보면 대조구가 다른 6가지 시료에 비해 물 결합력이 낮은 것을 알 수 있으며 이는 탈지강 단백질 코팅액을 쌀에 코팅함으로써 쌀의 수분 손실을 막을 수 있음을 보여주는 결과로 생각된다.

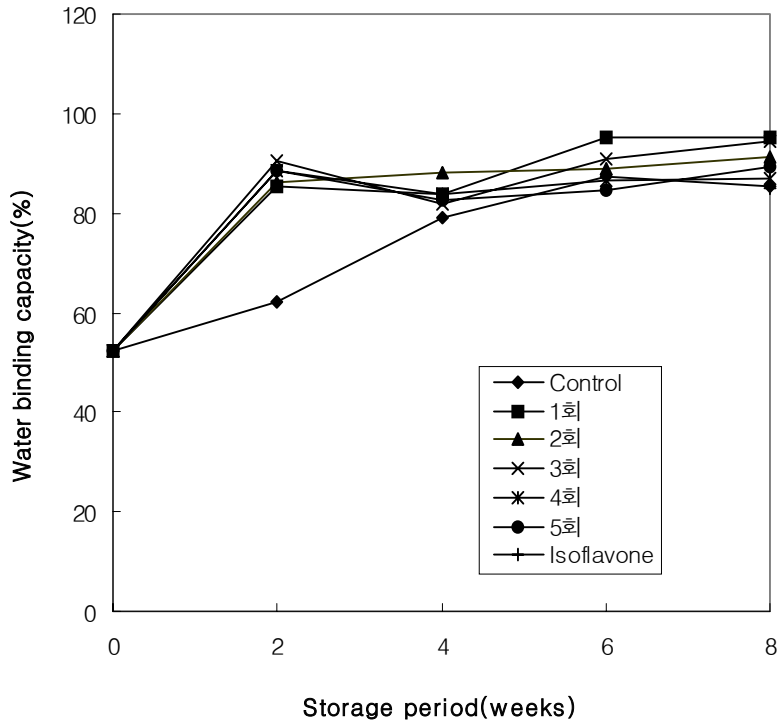


Fig. 31. Changes in water binding capacities of coated rices during storages.

바. 코팅쌀의 호화 응집성(Gel consistency)

저장 기간 동안 쌀가루 시료의 호화 응집성을 측정된 결과는 Table 8과 같다. 저장하기 전 처음 시료의 호화 응집성은 5.34cm이었고 모든 시료가 저장 2주 후의 호화 응집성은 거의 비슷했으나, 저장 4주 후부터 시간이 경과함에 따라 감소하였다. 대조구의 경우에는 5.34cm~4.32cm까지 감소한 반면에 탈지강 단백질 코팅액을 5회 코팅한 쌀과 isoflavone을 첨가하여 5회 코팅한 쌀은 저장 8주 동안 호화 응집성이 5.34cm~5.28cm로 거의 비슷했다. 코팅액을 3회 코팅한 쌀가루의 호화 응집성의 변화는 5.34~4.77cm로 대조구의 호화 응집성 감소율의 약

50%정도 수준이었다.

Table 8. Changes in gel consistencies by coating times and storage periods

| Gel consistency (cm) | | | | | |
|----------------------|------------------------|------|------|------|------|
| Coating times | Storage period (weeks) | | | | |
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Control | 5.34 | 5.3 | 4.2 | 4.69 | 4.32 |
| 1회 | 5.34 | 5.3 | 4.9 | 4.57 | 4.3 |
| 2회 | 5.34 | 5.32 | 5.03 | 4.71 | 4.3 |
| 3회 | 5.34 | 5.32 | 5.11 | 4.96 | 4.77 |
| 4회 | 5.34 | 5.32 | 5.23 | 5.15 | 5.01 |
| 5회 | 5.34 | 5.34 | 5.32 | 5.32 | 5.28 |
| Isoflavone | 5.34 | 5.34 | 5.32 | 5.3 | 5.3 |

호화 응집성은 미곡의 점성을 나타내는 지표로, Cagampang 등(1973)에 의하면 호화 응집성의 차이는 일차적으로 쌀의 아밀로우스 함량과 관계가 있으며 그 다음으로 amylopectin의 분자량과 상관관계가 있는 것으로 보고한 바 있다. 또한 김 등(1988)은 gel의 흘러간 길이가 61~100mm면 soft, 41~60mm면 medium, 26~40mm면 hard로 구분하고 호화 응집성이 연한(soft) 쌀의 밥맛이 더 좋다고 보고한 바 있는데 본 실험 결과 저장 기간이 길어질수록 호화 응집성이 감소하였기 때문에 밥맛이 감소됨을 알 수 있었다. 그러나, 모든 시료가 8주 저장 기간 동안 호화응집성이 41~60mm에 속하는 medium으로 분류되기 때문에 밥맛의 감소는 크지 않을 것으로 여겨진다. 한편 대조구에 비해 탈지강 단백질 코팅액을 3회 이상 코팅한 쌀은 저장 기간이 경과함에 따른 호화 응집성의 감소율이 훨씬 작았다. 이러한 결과로 탈지강단백질 코팅액을 쌀에 코팅함으로써 저장 기간 동안 밥맛의 감소를 억제시킬 수 있으리라 생각된다.

사. Amylograph에 의한 쌀 전분의 호화특성

Brabender/Visco/Amylography에 의한 코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀의 호화 양상을 분석한 결과는 Table 9와 같았고, 호화개시 온도는 점도가 10 Brabender Unit(B.U.)에 도달하는 온도로 나타내었다.

Table 9. Pasting properties of coated and stored rice

| | Non-coated rice | Coated rice |
|---|-----------------|-------------|
| Storage period (week) | 8 | 8 |
| Initial pasting temp. (°C) | 71 | 68 |
| Peak (B.U.) | 340 | 135 |
| At 95°C (B.U.) | 120 | 40 |
| At 95°C after 15 min of stirring (B.U.) | 360 | 140 |
| At 50°C (B.U.) | 760 | 460 |
| Consistency (B.U.) | 400 | 320 |
| Breakdown (B.U.) | -20 | -5 |
| Set back (B.U.) | 420 | 325 |

코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀의 호화개시 온도는 각각 68°C와 71°C이었으며 최고 점도는 135 B.U.와 340 B.U.이었다. 조은자와 김성근(1990)에 의하면 현미와 백미의 호화개시 온도는 저장에 따른 변화를 볼 수 없었으며, 최고 점도는 저장 기간에 따라 증가하였다고 보고하였다. 저장 중 호화 점도의 증가현상은 쌀의 형태에 관계없이 나타나는 현상으로 알려져 있다. 그러나 Indudhara Swamy등(1978)은 벼와 백미를 3년간 저장하였을 때, 처음 6개월까지는 최고 점도가 증가하였으나 그 후에는 계속 감소하였다고 하였다. 신 등(1985)도 35°C에 저장한 현미의 경우에도 최고 점도는 증가하였다고 하였다. 김 등(1973)은 미국 저장 중

아밀로그래프 특성을 조사한 결과, 최고 점도가 저장 기간 중 증가하였으며 이는 저장 중 α -amylase의 감소에 기인한 것으로 보고하였다. 그러나 Yasumatsu 등 (1964)은 저장 중 중성지방의 가수 분해에 의해 유리지방산이 생성되어 쌀전분의 팽윤현상이나 호화작용을 억제하였기 때문에 최고 점도가 증가하였다고 보고하였다. Shoji 등(1981)은 장기 저장 시 전분 자체의 변화와 함께 최고 점도가 감소한다고 보고한 바도 있다. 한편 노화의 정도를 나타내는 setback의 경우 코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀은 각각 320B.U.와 420B.U.였다. Indudhara-Swamy 등 (1978)에 의하면 setback이 저장 6개월까지는 증가하다가 3년째 도달할 때까지 꾸준히 감소하는 경향을 보인다고 보고하였다.

이와 같이, 본 실험에서 코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀의 호화개시 온도, 최고 점도, set back을 비교하였을 때, 코팅하지 않은 쌀에 비해 코팅한 쌀이 저장 중에 성분의 변화가 적은 것으로 생각된다.

아. 색도변화

코팅쌀의 저장에 따른 색도의 변화는 Table 10과 같다. 코팅 횟수가 증가할수록 L값은 감소하였고 a값과 b값은 대조구에 비해 코팅한 쌀이 높았으나 코팅 횟수 간의 유의적인 차이는 없었다. 또한 저장 기간이 길어질수록 코팅한 쌀은 L값이 증가하였고, 대조구는 감소하였다. 반면에 a값은 저장 8주 후 대조구만 제외하고 저장 전보다 증가하였고, b값은 저장 8주 후 코팅한 쌀은 저장 전보다 감소하였다. Shin(1986)은 5°C에 저장한 현미보다 35°C에 저장한 현미를 도정하고 취반한 백미의 백도 값은 35°C 저장에서 낮았다고 하였다. Inoue 와 Suzuki((1986)도 실온에서 2년간 저장한 현미를 도정수율 92%로 도정했을 때 백미의 색도는 저장에 따라 L값은 감소하고 b값은 증가하며 이러한 변화는 도정도가 낮은 시료에서 컸다고 보고하였다. 이러한 결과는 쌀의 저장에 의한 갈변은 a값과 b값, 특히 b값이 크게 관여하여 쌀알의 외부에서 점차 내부로 진행되는 것으로 알려져 있고 (조은자와 김성곤, 1990), 미곡의 저장 중 L값과 b값의 감소는 미곡의 표면 지질의 산화에 의한 것이라고 보고한 연구(Kim. 등, 1988)도 있다.

본 실험에서 저장 기간 동안 코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀 모두 L값은 감소하였으나, b값은 코팅을 한 쌀의 경우 저장 8주 후 증가한 것으로 미루어 본다면, 탈지장 단백질 코팅액을 쌀에 코팅함으로써 저장 중 쌀 표면의 지질 산화나 갈

변에 의한 변화를 막을 수 있을 것으로 생각된다.

Table 10. Changes in colors by coating times and storage periods

| Color value | Storage (week) | Control | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Isoflavone |
|-------------|----------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|------------|
| L | 0 | 64.67 | 58.76 | 59.76 | 59.63 | 59.71 | 59.45 | 59.49 |
| | 2 | 64.50 | 59.42 | 59.79 | 59.82 | 59.62 | 59.08 | 58.97 |
| | 4 | 65.06 | 60.01 | 60.00 | 60.59 | 59.46 | 58.87 | 58.97 |
| | 6 | 64.16 | 62.26 | 61.23 | 58.59 | 58.75 | 59.25 | 59.20 |
| | 8 | 63.52 | 63.37 | 57.70 | 60.82 | 58.46 | 59.50 | 59.55 |
| a | 0 | +3.58 | +3.85 | +4.57 | +4.39 | +4.73 | +4.54 | +4.36 |
| | 2 | +3.61 | +3.93 | +4.48 | +4.38 | +4.59 | +4.45 | +4.49 |
| | 4 | +3.67 | +4.22 | +4.22 | +3.89 | +4.34 | +4.06 | +4.08 |
| | 6 | +3.51 | +4.09 | +4.06 | +4.56 | +4.37 | +3.95 | +3.96 |
| | 8 | +3.64 | +3.65 | +4.52 | +4.21 | +4.46 | +4.00 | +3.99 |
| b | 0 | +16.05 | +15.91 | +16.44 | +16.57 | +16.17 | +16.21 | +16.20 |
| | 2 | +16.14 | +15.78 | +16.40 | +16.51 | +16.12 | +16.04 | +16.07 |
| | 4 | +16.26 | +13.32 | +15.64 | +16.92 | +16.05 | +16.00 | +15.91 |
| | 6 | +16.05 | +16.58 | +16.22 | +13.64 | +14.44 | +15.90 | +15.86 |
| | 8 | +16.05 | +15.84 | +16.38 | +15.78 | +14.35 | +15.98 | +15.93 |

자. 쌀밥의 조직감 변화

저장 4주 후의 시료를 취반하여 쌀밥의 물리적 조직감을 측정 한 결과는 Table 11과 같다.

Table 11. Textural properties of coated rices

| Coating times | Hardness | Cohesiveness | Springness | Gumminess | Chewiness | Adhesiveness |
|---------------|----------|--------------|------------|-----------|-----------|--------------|
| Control | 1.4730 | 0.0291 | 2.9380 | 0.0429 | 0.1260 | -0.0294 |
| 1 | 1.5252 | 0.0218 | 3.0607 | 0.0423 | 0.1296 | -0.0223 |
| 2 | 1.8703 | 0.0210 | 2.6901 | 0.0393 | 0.1057 | -0.0062 |
| 3 | 1.7751 | 0.0230 | 3.0915 | 0.0408 | 0.1261 | -0.0119 |
| 4 | 1.5019 | 0.0239 | 2.7620 | 0.0359 | 0.0992 | 0.0204 |
| 5 | 1.3698 | 0.0189 | 2.1177 | 0.0258 | 0.0547 | 0.0016 |
| Isoflavone | 0.96975 | 0.0263 | 2.4990 | 0.0255 | 0.0638 | 0.0015 |

경도는 5회 코팅한 쌀과 향산화제를 넣고 5회 코팅한 쌀이 대조구에 비해 낮은 수치를 보였고, 응집성도 대조구에 비해 코팅한 쌀 시료가 낮은 값을 보였다. 또한 점성도 대조구가 가장 높았으며, 코팅횟수가 증가할수록 점성은 감소하였다. 특히 5회 코팅한 쌀과 향산화제를 넣고 5회 코팅한 쌀의 점성이 대조구에 비해 훨씬 낮았으며, 씹힘성도 점성과 같은 경향을 나타내었다. 접착성은 대조구와 코팅 3회까지는 음의 값을 보였으나 코팅 4회 이상에서는 부착성이 있는 것으로 나타났다.

김 등(1995)은 관능검사에 따른 식미와의 상관관계에서 경도는 쌀 중의 아밀로펙틴 함량과 부의 상관, 점성은 정의 상관관계를 보인다고 보고한 바 있다. 또한 Hizukuri 등(1989)은 쌀의 아밀로펙틴 중 초장쇄가 적을수록 점성이 높고 노화속도가 느려지는 경향을 보이며, 초장쇄가 적은 아밀로펙틴을 가진 쌀밥이 경도가 낮고 부착성이 높아 식감이 좋은 것으로 보고하였다. 한편 Okabe(1979)는 수확 후 2~3 개월까지 밥맛이 유지되나 저장 6개월 이후부터는 경도가 증가되어 밥맛이 저하된다고 보고하였으며, 쌀은 저장하는 동안 인장강도, 과쇄경도가 증가(Kunze와 Choudhury, 1972)되어 묵은 쌀로 지은 밥은 햅쌀로 지은 밥보다 단단하고 끈기가 감소된다고 보고(Inoue와 Hampel, 1986)한 바 있다. 한편 취반의 조직감이 저하되는 데는, 저장 중 전분의 복합 미세립자 간의 결합력이 증가되어 취반 시 전분입자의 흡수가 억제되고 한편으로는 지방의 가수분해에 의한 지방산화로 지방산이 전분의 아밀로오스와 결합, 복합체를 이루어 조직감이 저하된다

고 알려져 있다(김 등, 1997).

본 실험에서의 결과들로 보아, 대조구에 비해 코팅한 쌀이 경도가 낮고 부착성이 높아 좋은 식감을 가질 수 있음을 추측할 수 있다. 또한 탈지강 단백질 코팅액을 쌀에 코팅하여 저장함으로서 전분의 변화와 지방의 가수분해로 인한 지방산이 전분과의 결합을 막을 수 있어 취반 후 쌀밥의 조직감을 저하시키지 않으리라 생각된다.

차. 취반의 관능 검사

저장 4주 후의 시료를 취반하여 쌀밥의 13가지 관능적 특성을 평가한 결과는 Table 12와 같다. 윤기, 색, 조직감(경도)을 제외하고는 코팅한 쌀이 모든 항목에서 점수가 높았다. 특히 색의 항목에서는 대조구가 가장 높은 점수를 받았고 코팅 횟수가 증가할수록 점수가 낮아지는 것으로 보아 색도계로 측정된 b값에서 대조구 값이 가장 높았고, 코팅한 쌀이 더 낮았던 결과와 일치하는 것으로 생각된다.

조직감에 있어서는 코팅한 쌀이 경도만 점수가 낮고 탄력성, 응집성, 부착성 모두 대조구에 비해 점수가 높았다. 멍치는 정도, 입술 부착성 및 내부 촉촉함 등은 쌀의 팽윤력과 물 결합력이 관련이 있는 특성들로 앞 실험에서 코팅한 쌀의 물 결합력이 대조구에 비해 작게 감소하는 데 기인한다고 생각된다.

Moritaka 등(1971)은 저장 중에 생성된 유리 지방산은 아밀로오스와 복합체를 형성하고, 지방질 산화에 의해 생성된 hydroperoxides는 단백질의 산화를 일으킬 수 있으며 이러한 현상들이 전분 입자들의 결합력을 강화시켜 취반 시 팽창을 억제하며, 밥의 경도를 증가시킨다고 보고하였다. 관능검사 결과, 경도가 대조구가 코팅한 쌀에 비해 점수가 높은 것으로 보아 코팅에 의한 성분 변화를 억제하고 있다는 것을 다시 확인할 수 있었다.

코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀의 전반적인 품질 항목에서 코팅한 쌀의 점수가 높은 것으로 나타났기 때문에 이화학적 특성에서 뿐만 아니라 관능적 특성도 탈지강 단백질을 쌀에 코팅함으로써 통상 쌀이 가공 후 2개월간 유통되는 실정을 감안하면 저장 8주 후 식미저하를 억제할 수 있을 것으로 생각된다.

Table 12. Sensory properties of coated rices

| | 윤기 | 색 | 향 | 맛 | 조직감 | 탄력성 |
|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control | 5.14±0.50 | 6.36±0.32 | 4.14±0.40 | 4.93±0.40 | 7.29±0.34 | 5.21±0.59 |
| 1 | 4.29±0.51 | 5.71±0.53 | 5.07±0.64 | 4.86±0.40 | 6.43±0.48 | 5.64±0.60 |
| 2 | 4.93±0.47 | 5.79±0.54 | 4.43±0.64 | 5.76±0.39 | 5.57±0.44 | 5.93±0.43 |
| 3 | 4.50±0.60 | 5.00±0.61 | 5.43±0.40 | 5.07±0.37 | 6.57±0.29 | 5.43±0.42 |
| 4 | 5.36±0.49 | 4.57±0.47 | 4.86±0.33 | 5.64±0.50 | 5.50±0.44 | 5.00±0.50 |
| 5 | 4.86±0.57 | 3.86±0.47 | 4.50±0.63 | 6.21±0.50 | 5.71±0.53 | 5.50±0.54 |
| Isoflavone | 4.64±0.49 | 3.93±0.32 | 4.21±0.54 | 5.50±0.29 | 4.50±0.40 | 4.36±0.43 |

| | 응집성 | 부착성 | 외관의 품질 | 냄새의 품질 | 맛의 품질 | 조직감의 품질 | 전반적 품질 |
|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Control | 4.43±0.50 | 4.21±0.54 | 5.21±0.37 | 5.21±0.37 | 4.64±0.37 | 4.50±0.48 | 4.50±0.44 |
| 1 | 5.07±0.64 | 3.79±0.56 | 4.50±0.47 | 5.86±0.31 | 4.43±0.40 | 4.57±0.45 | 4.36±0.41 |
| 2 | 5.29±0.47 | 5.14±0.55 | 5.50±0.40 | 6.36±0.46 | 5.14±0.39 | 5.14±0.47 | 5.07±0.50 |
| 3 | 5.07±0.51 | 4.43±0.54 | 6.14±0.31 | 5.43±0.51 | 5.43±0.44 | 5.29±0.46 | 5.21±0.46 |
| 4 | 5.00±0.52 | 4.57±0.44 | 5.86±0.42 | 4.79±0.33 | 5.14±0.42 | 5.36±0.46 | 5.21±0.35 |
| 5 | 5.93±0.53 | 5.93±0.50 | 5.14±0.46 | 6.21±0.39 | 5.93±0.45 | 5.93±0.58 | 6.00±0.47 |
| Isoflavone | 5.79±0.39 | 5.29±0.41 | 5.76±0.49 | 5.50±0.43 | 5.50±0.48 | 5.29±0.46 | 5.43±0.43 |

결론적으로 농산 폐기물로 처리되고 있는 탈지강에서 bacteriocin을 생산할 수 있는 *Pseudomonas putida* 21025를 선별배양한 후 단백질을 추출하고 여기에 대두박으로부터 경제적으로 추출된 isoflavone을 강화하여 생분해성 필름을 개발하고, 이를 직접적으로 쌀에 코팅하여 쌀의 저장성 및 향암 항균 기능성 향상시키고자 탈지강 단백질 코팅제를 쌀에 코팅한 횡수별로 저장성 및 이화학적 특성을 조사하였다. 그 결과, 코팅 횡수가 가장 많은 5회 코팅한 쌀이 저장 기간(8주) 동안 쌀의 성분 변화가 가장 작았으며, 그로 인해 식미의 저하도 막을 수 있었다. 그

러나 코팅을 하는데 있어서 건조 시간과 비용을 고려해본다면, 탈지강 단백질 코팅제를 쌀에 3회 정도만 코팅하여도 쌀의 저장성 향상에 도움이 되리라 기대된다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 탈지강 단백질 추출의 극대화 (100%)

본 연구에서는 용매 종류, ethanol함량, pH 및 modification에 따른 탈지강 단백질 추출률을 조사하였다. 그 결과 10% ethanol용액의 pH를 9로 조절하여 단백질추출률을 94%로 증가시켰으며, succinylation을 추가로 적용하였을 때, 단백질 추출률은 97%에 이르렀다. 타 연구에서는 쌀 단백질의 추출률이 최고 82%에 미친 것에 비하여 만족할 만한 결과로 생각된다.

2. 대두박으로부터 isoflavone 추출 (100%)

불린 콩의 대두박, 탈지된 대두박, 생콩에서 isoflavone을 추출한 결과, 생콩에서 96.4ppm, 탈지된 생콩에서 42.91ppm, 대두박에서 226.78ppm의 isoflavone용액이 추출되었다. 모든 시료에서 isoflavone의 추출률은 낮았으나 그 중 대두박에서 가장 많은 양의 isoflavone용액이 추출되었으며, 이 isoflavone 추출용액 내의 순수 isoflavone함량은 29%였다. 비록 isoflavone 추출용액의 순도도 낮고, 추출률도 높지 않으나 경제적인 가공 부산물로부터 낮은 비용(single methanol extraction)으로 강화미를 가공하기에 충분한 isoflavone을 추출할 수 있었다.

3. 탈지강에 배양 가능한 bacteriocin 생산 균주 개발 (100%)

탈지강 배지에서 bacteriocin 생성이 가능한 균주를 선별하고자, 쌀에 존재하는 *Bacillus* sp.와 *Pseudomonas* sp. 등 9개 균주를 시험하여 *Pseudomonas putida* 21025를 성공적으로 선별하였으며, 이 균이 생성한 bacteriocin은 쌀에 존재하는 미생물 및 토양미생물에 대하여 넓은 항균활성을 갖는 것으로 나타났다. 그리고, 지금까지 이용되고 있는 탈지강단백질 추출 조건에 대한 적합성을 알아보기 위해 bacteriocin의 특성을 조사한 결과, *Pseudomonas putida* 21025에서 생성되는 bacteriocin은 pH 6.0~9.0에서 2시간동안 안정하였고, 50℃이하에서 안정하였으며, 에탄올에 대하여 3시간동안 안정한 특성을 가지고 있는 것으로 나타나, 탈지강 단백질 코팅제에 적용하기에 적합한 것으로 판단되었다. 또한 부분정제한

bacteriocin의 분자량은 약 21.6 kDa로 비교적 작은 분자량을 나타내었다.

본 연구의 결과로 bacteriocin이 배양된 원료로부터 단백질을 추출할 경우, bacteriocin이 단백질성분과 함께 추출되는 것을 발견하였고, bacteriocin을 분리·정제할 필요가 없으므로 경제성이 뛰어난 것을 발견하였다. 또한, 단백질 필름으로 이행된 bacteriocin은 장기간 항균효과를 유지하는 것을 발견하였다. 그러므로 타 곡물 배지에 배양 가능한 항균활성물질 생성균주가 검색되면, 경제적이며 물리적 특성과 항균 저장성이 뛰어난 항균활성물질 함유 단백질 필름이 개발될 수 있어 기능성 포장재로 개발될 수 있을 것으로 생각된다.

4. 탈지강 단백질을 이용한 필름 및 코팅제 가공 기술 개발 (100%)

탈지강에 10% 에탄올을 5배 첨가하여 pH 9로 조절하면서 3시간 동안 추출 한 탈지강 단백질 추출액에 glycerol 2%(v/v)을 첨가하여 80℃까지 가열한 후, 상온에서 식힌 후 코팅액으로 사용할 수 있는 최적 조건 및 기술을 개발하였고, 이를 이용하여 pilot-plant규모로 코팅쌀을 제조하였다. 코팅된 현미의 건조를 위해서는 기존의 곡물건조 장치를 이용하여 냉온건조(35℃)함으로서 목적을 달성할 수 있었고, 10분도미에 있어서는 코팅 후, 건조과정에서 checking현상을 방지하기 위해서 마이크로파를 이용한 건조를 수행해야함을 밝혔다. 이와 같이 탈지강 단백질을 이용하여 저장성과 기능성이 우수한 필름 및 코팅제 가공 기술을 성공적으로 개발하였다.

5. 기능성이 보강된 단백질 코팅제에 의한 쌀 코팅 및 일반미와 코팅쌀 간의 isoflavone 함량비교 (100%)

탈지강 단백질 필름의 **수분 및 산소 투과도**는 단백질의 **acetylation**에 의하여 감소되었으며, **인장강도**는 단백질의 **phosphorylation**과 가소제로 **sorbitol**을 사용함으로써 증가시킬 수 있었다. 반면, **신장율**은 **glycerol**을 가소제로 첨가한 필름이 조금 더 높았고 단백질 변형에는 큰 영향을 받지 않았다. 그러므로 쌀의 저장성을 향상시키기 위해서는 코팅제의 인장강도보다는 낮은 수분 및 산소 투과율이 필요하므로 **acetylation**한 탈지강 단백질로 코팅제를 가공함으로써 **수분 및 산소와의 접촉을 억제**할 수 있었다.

탈지강 단백질 코팅제 제조 시, 경제적으로 추출된 2% 대두 isoflavone추출액(전체 용액의 2%의미)을 첨가하여 대두 isoflavone 강화미를 성공적으로 생산하였으며, 그 결과 탈지강 단백질 코팅쌀 1kg에서 2.26g의 isoflavone이 존재하는 것으로 나타났다. 참고문헌에 의하면 현미에 소량의 isoflavone이 존재하는 것으로 보고 되었으나, 본 연구에서는 코팅되지 않은 10분도미 혹은 현미에서 isoflavone이 거의 검출되지 않았다. 대두 isoflavone의 첨가량에 따라서 코팅쌀 내의 isoflavon 함량은 임의로 조절할 수 있었으나 과다한 량의 isoflavone은 오히려 건강에 좋지 않은 영향을 미치게 될 것이므로 2.26g/1 kg of rice 로 조절하였다.

6. 저장 중, 일반 저장 미와 코팅 쌀의 이화학적 성질 및 품질변화 비교 (100%)

탈지강 단백질 코팅제를 현미에 코팅하여 8주간 저장하면서 탈지강 단백질 코팅제가 쌀의 저장성을 향상시킬 수 있는지를 조사한 결과, 저장 중 **중량 감소율**은 1회 코팅한 쌀을 제외하고는 탈지강 단백질 코팅제를 코팅하지 않은 쌀 보다 낮았으며 3회 이상 코팅한 쌀이 저장 8주 동안 코팅하지 않은 쌀보다 pH가 높아 **유리지방산의 생성이 억제**되었음을 나타내었다. 저장 중, 쌀의 산패도를 조사한 결과 **과산화물가, 산가, TBA**가 모두 탈지강 단백질 코팅제로 코팅한 쌀이 코팅하지 않은 쌀 보다 수치가 **낮았으며**, 특히 **isoflavone**을 첨가하여 코팅하였을 때에는 쌀의 **지방 산패 억제 효과**가 더 높았다. 한편 쌀을 저장하는 동안 식미의 변화에 영향을 끼치는 전분 변화를 살펴보기 위해 물결합력, 호화 응집성, 쌀가루의 pasting 특성을 조사하였다. **물 결합력**은 저장 4주 후까지 코팅하지 않은 쌀이 코팅한 쌀 보다 낮았고, **호화 응집성**도 탈지강 단백질 코팅제를 3회 이상 코팅한 쌀이 코팅하지 않은 쌀 보다 훨씬 감소율이 적었다. Amylograph에 의한 쌀 전분의 **호화특성**에서는 코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀의 호화 개시온도는 각각 68℃와 71℃였으며 최고 점도는 320B.U.와 420B.U.로 이 역시 코팅이 **쌀 전분의 저장성을 증가**시킨 것으로 나타났다. 저장기간 동안 색도는 쌀의 갈변에 영향을 끼치는 b값이 코팅한 쌀이 코팅하지 않은 쌀보다 높게 나왔으며 물리적 조직감의 변화는 코팅하지 않는 쌀 보다 코팅한 쌀이 경도가 낮고 부착성이 높았다. 저장 4주 후 취반하여 쌀밥의 관능검사 평가를 한 결과 탈지강 단백질 코팅제를 코팅한 쌀이 전반적인 품질 항목에서 코팅하지 않은 쌀 보다 점수가 높았다.

7. 저장 후, 코팅 쌀의 취반특성 및 관능검사 (100%)

가. 취반특성

코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀의 호화개시 온도는 각각 68℃와 71℃였으며 최고 점도는 135 B.U.와 340 B.U.이었다. 최고 점도는 저장 기간에 따라 증가하는 경향을 나타내는 데, 이는 저장 중 α -amylase의 감소에 기인하거나, 저장 중 중성 지질의 가수 분해에 의해 유리지방산이 생성되어 쌀전분의 팽윤현상이나 호화작용을 억제하였기 때문인 것으로 알려져 있다. 노화의 정도를 나타내는 setback의 경우 코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀은 각각 320B.U.와 420B.U.였다. 이 또한 저장기간에 따라 증가하는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀의 **호화개시 온도, 최고점도, set back을 비교하였을 때 코팅하지 않은 쌀에 비해 코팅한 쌀이 저장 중 성분의 변화가 적은 것으로** 생각된다.

저장 4주 후의 시료를 취반하여 쌀밥의 물리적 조직감을 측정된 결과 경도는 5회 코팅한 쌀과 향산화제를 넣고 5회 코팅한 쌀이 대조구에 비해 낮은 수치를 보였고, 응집성도 대조구에 비해 코팅한 쌀 시료가 낮은 값을 보였다. 또한 검성도 대조구가 가장 높았으며, 코팅횟수가 증가할수록 감소하였다. 특히 5회 코팅한 쌀과 향산화제를 넣고 5회 코팅한 쌀의 검성 측정값이 대조구에 비해 훨씬 낮았으며, 씹힘성도 검성과 같은 경향을 나타내었다. 접착성은 대조구와 코팅 3회까지는 음의 값을 보였으나 코팅 4회 이상에서는 부착성이 있는 것으로 나타났다. 쌀은 저장하는 동안 인장강도, 파쇄경도가 증가되어 묵은 쌀로 지은 밥은 햅쌀로 지은 밥보다 단단하고 끈기가 감소하는 것으로 알려져 있다.

이와 같은 결과들로 본다면, 본 실험에서 대조구에 비해 **코팅쌀이 경도가 낮고 부착성이 높아 좋은 식감**을 가질 수 있음을 추측할 수 있다. 또한 탈지장 단백질 코팅액을 쌀에 코팅하여 저장함으로써 전분의 변화와 지방의 가수분해로 인한 지방산이 전분과의 결합을 막을 수 있어 취반 후 쌀밥의 조직감을 저하시키지 않으리라 생각된다.

나. 관능검사

저장 4주 후의 시료를 취반하여 쌀밥의 13가지 관능적 특성을 평가한 결과, 운

기, 색, 경도를 제외하고는 코팅한 쌀이 모든 항목에서 점수가 높았다. 특히 색의 항목에서 대조구가 가장 높고 코팅 횟수가 증가할수록 점수가 낮은 것으로 보아 색도계로 측정된 b값에서 대조구 값이 가장 높았고, 코팅한 쌀이 더 낮았던 결과와 일치되는 결과로 생각된다. 조직감에 있어서는 코팅한 쌀이 경도만 점수가 낮고 탄력성, 응집성, 부착성 모두 대조구에 비해 점수가 높았다. 멍치는 정도, 입술 부착성 및 내부 축축함 등은 쌀의 팽윤력과 물 결합력이 관련이 있는 특성들로 앞 실험에서 코팅한 쌀의 물 결합력이 대조구에 비해 적게 감소하는 데 기인한다고 생각된다. 저장 중에 생성된 유리 지방산은 아밀로오스와 복합체를 형성하고, 지방질 산화에 의해 생성된 hydroperoxides는 단백질의 산화를 일으킬 수 있으며 이러한 현상들이 전분 입자들의 결합력을 강화시켜 취반 시 팽창을 억제하며, 밥의 경도를 증가시킨다고 알려져 있다. 관능검사 결과 경도에 있어서 대조구가 코팅한 쌀에 비해 점수가 높은 것으로 보아 코팅에 의한 성분 변화를 억제하고 있다는 것을 다시 확인할 수 있었다.

코팅한 쌀과 코팅하지 않은 쌀의 **전반적인 품질 항목에서 코팅한 쌀이 점수가 높은 것으로** 나타났기 때문에 이화학적 특성에서 뿐만 아니라 관능적 특성도 탈지강 단백질을 쌀에 코팅함으로써 통상 쌀이 가공 후 2개월간 유통되는 실정을 감안하면 저장 **8주 후 식미저하는 거의 없을 것으로** 생각된다.

8. 탈지강 단백질 코팅 쌀의 저장성 (100%)

탈지강 단백질 코팅제의 아미노태 질소함량을 조사한 결과 bacteriocin이 함유된 탈지강 단백질 코팅제가 함유하지 않은 탈지강 단백질 코팅제보다 아미노태 질소함량이 낮은 것으로 나타나 항균성이 증가한 것으로 나타났다. 탈지강 단백질 코팅제를 현미에 코팅하여 8주간 저장하면서 탈지강 단백질 코팅제가 쌀의 저장성을 향상시킬 수 있는지를 조사한 결과, 중량 감소율은 1회 코팅한 쌀을 제외하고는 탈지강 단백질 코팅제를 코팅하지 않은 쌀 보다 낮았으며 pH의 변화는 3회 이상 코팅한 쌀이 저장 8주 동안 코팅하지 않은 쌀보다 pH가 높았다. 저장 중, 쌀의 산패도를 조사한 결과 과산화물가, 산가, TBA가 모두 탈지강 단백질 코팅제로 코팅한 쌀이 코팅하지 않은 쌀 보다 수치가 낮았으며, 특히 isoflavone을 첨가하여 코팅했을 때 쌀의 지방 산패를 억제하는 효과가 높았다. 한편 쌀을 저장

하는 동안 식미의 변화에 영양을 끼치는 전분 변화를 살펴보기 위해 물결합력, 호화 응집성, 쌀가루의 pasting 특성을 조사하였다. 물 결합력은 저장 4주 후까지 코팅하지 않은 쌀이 코팅한 쌀 보다 낮았고, 호화 응집성도 탈지강 단백질 코팅제를 3회 이상 코팅한 쌀이 코팅하지 않은 쌀 보다 훨씬 감소율이 적었다.

이와 같이 bacteriocin 및 isoflavone 함유 탈지강 단백질 코팅쌀은 저장 중의 **미생물에 의한 품질변화, 중량감소, 산화에 의한 품질변화, 쌀 전분의 품질저하**가 기존의 쌀에 비해 훨씬 **낮은 것으로** 조사되어 **저장성이 현저히 증가한 것**으로 나타났다.

9. 대두박 isoflavone 강화미 개발 (100%)

사용된 시료 중, 대두유 제조 시의 부산물로 얻어지는 대두박으로부터 가장 많은 양(226.78ppm/g)의 isoflavone을 추출함으로써 경제적으로 isoflavone을 코팅쌀에 강화할 수 있었다. 대두박을 80% methanol에 넣어 70℃ 항온수조에서 5시간동안 추출한 후 methanol을 완전히 제거하고 이 농축액을 탈지강 단백질 추출 시 사용되는 ethanol(1:5, v:v)에 용해시켜 총 탈지강 단백질 코팅제에 2% 대두 isoflavone 농축액이 함유되게 하였다. 대두 isoflavone이 함유된 코팅제로 쌀을 코팅함으로써 kg당 2.26g의 대두 isoflavone이 존재하는 탈지강 단백질 코팅 강화미를 생산할 수 있었다.

위에서 언급한 바와 같이 경제적인 원료인 대두박으로부터 간단한 1회의 methanol추출법으로 순도는 낮으나 충분한 양의 isoflavone을 경제적으로 얻을 수 있었으며 이를 코팅제에 첨가함으로써 isoflavone함량 조절이 가능한 대두박 isoflavone 강화미를 개발하였다.

10. 현장 적용성 (90%)

10분도미의 코팅은 checking 현상을 억제하기 위하여 마이크로파 건조기의 도입이 필요하나, 코팅현미의 생산은 기존의 곡물건조장치를 사용할 수 있고 가공공정이 간편하며 경제성이 우수하여 현장적용이 무척 용이하여 쉽게 상품화 될 수 있을 것으로 생각된다.

11. 경제성 (100%)

현재, 쌀의 소매가는 약 5,000,000원/ton으로 거래되고 있다. 1ton의 쌀을 대두 isoflavone으로 강화된 쌀겨 단백질 코팅제로 코팅할 경우, 각각 120kg의 탈지강과 대두박이 사용될 것으로 예상되며 이들의 가격은 각각 2,000원 및 5,000원이므로 재료비는 7,000원 정도로 추정되며, isoflavone추출용매는 회수 후 재사용이 가능하므로 대략 3,000원 정도의 용매손실이 발생할 것으로 보인다. 또한 코팅현미 가공 시에는 기존의 건조장치를 그대로 사용할 수 있어 추가시설비용은 들지 않는다. 물론, bacteriocin 배양 시에 배양조가 필요하나, 이 또한 기존의 저장고를 이용하면 추가시설이 필요치 않을 것으로 생각된다. 이때 전기료 및 인건비를 고려하면 추가 경비가 소요될 것으로 보이나 일반미 생산 시에도 건조에너지와 인건비는 역시 부가되므로, 총 가공비는 1ton의 쌀 코팅 시, 10,000원 정도가 소요될 것으로 예상된다. 1ton의 쌀 저장 시에 발생하는 곡물 손실량은 정확한 통계는 없으나, 약 11.5%로 추정되고 있으므로 이러한 쌀 코팅방법으로 10%의 곡물손실만을 억제시킬 수 있다하여도 쌀 1ton당 50,000원의 추가 이익을 가져올 수 있어서, 쌀의 저장손실부분에서만 쌀겨 단백질 코팅은 300,000원/ton의 경제적 효과가 있다. 또한, 탈지강과 대두박으로부터 단백질과 isoflavone을 추출한 후에도 fiber와 전분은 그대로 남아 있으므로 이를 다시 사료로 이용이 가능한 점을 고려하면 경제성은 더욱 커진다. 이러한 눈에 보이는 이점 이외에도 밀려드는 수입 농산품에 대항하기 위해서는 우리 농산품의 고품질화 및 다양화가 절실히 요구되고 있는 이 때에 저장성과 기능성을 갖춘 차별화된 상품의 개발은 많은 경제적 이윤을 가져올 것으로 믿는다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 1 절 추가연구의 필요성

본 연구과제에서 밝혀진 바와 같이 코팅된 현미의 건조를 위해서는 기존의 곡물건조 장치를 이용하여 냉온건조(35℃)함으로서 목적을 달성할 수 있었으나, 10분도미에 있어서는 코팅 후, 건조과정에서 checking현상(미립에 금이 가는 현상)이 발생하여 쌀의 품질이 크게 낮아졌다. 이러한 현상은 미립전체의 수분함량의 불균형으로 인한 수축도의 차이에서 오는 현상으로 생각되며, 정도의 차이는 있었으나 건조온도에 상관없이 공히 발생하였다. 그러나 마이크로파를 이용한 건조시, 10분도미의 checking현상은 효과적으로 억제되었으며 코팅미의 건조도 신속히 발생하였다. 마이크로파를 이용한 곡물건조는 국내에서는 현재 개발시작단계에 불과하나 구미에서는 파스타의 건조를 위하여 이미 오래전부터 상용되고 있는 건조방법이다. 이 건조법은 기존의 곡물건조방법에 비하여 경제적인 면에서도 뒤지지 않고, 건조시간이 단축되어 위생적이며 고품질의 제품을 생산할 수 있고 제품화시간이 짧아 여러 가지 곡물건조에 활용될 수 있을 것으로 생각된다. 그러므로, 마이크로파건조와 냉풍건조를 적절히 조합한 새로운 건조방법 및 설비의 개발이 필요하다.

서두에서 언급된 바와 같이 코팅 현미의 생산에는 기존의 냉·온풍건조장치를 사용하면 되나, 소비자의 기호도에 따라 코팅백미를 생산할 때에는 새로운 마이크로파 건조장치가 필요하며, 마이크로파 건조조건 및 대량생산을 위한 추가연구가 필요하다.

제 2 절 타 연구에의 응용

본 연구과제 수행 중, 탈지강에 bacteriocin 생성균을 접종하여 bacteriocin을 배양한 후, 이로부터 단백질을 추출하여 film을 제조하여 햄을 이용하여 bacteriocin

을 함유한 탈지장 단백질 필름의 항균효과를 대략적으로 조사하기 위해 햄에 임의적으로 균을 접종하여 1주일 후에 그 균의 번식도를 조사하였다. 그 결과, bacteriocin을 함유하지 않은 단백질 필름으로 포장된 햄의 균수에 비하여 bacteriocin 함유 필름으로 포장된 햄의 균수는 25%정도 증가하는데 그쳐 항균효과가 있는 것으로 나타났다. 이 결과로 bacteriocin이 배양된 원료로부터 단백질을 추출할 경우, bacteriocin이 단백질성분과 함께 추출되는 것을 발견하였고, bacteriocin을 분리·정제할 필요가 없으므로 경제성이 뛰어난 것을 발견하였다. 또한, 단백질 필름으로 이행된 bacteriocin은 장기간 항균효과를 유지하는 것을 발견하였다. 그러므로, 대두박 및 옥수수박에 배양 가능한 항균활성물질 생성균주가 검색되면, 경제적이며 물리적 특성과 항균 저장성이 뛰어난 항균활성물질 함유 대두박 및 옥수수박 필름이 개발될 수 있을 것으로 생각된다. 그러므로, 합성수지 포장재의 환경호르몬 및 환경오염 문제와 단백질 필름의 저장성문제 및 bacteriocin분리정제에 따른 경제성 문제를 해결하기 위하여, 동물사료로 사용되거나 폐기되고 있는 옥수수박 및 대두박에 직접 항균활성물질 생성균주를 접종하여 분리정제과정 없이 **항균활성물질이 배양된 옥수수박 및 대두박으로 필름을 가공함으로써 경제적이고 식품의 저장성이 뛰어나며 환경호르몬 및 환경오염의 문제를 야기하지 않는 식이성 포장재의 개발에 응용할 수 있다.**

1999년 복합조리식품의 생산액은 5,600억원에 달하고 있으나, 이들은 냉장유통·보관해야하는 등의 비용이 많이 들고 유통기한이 짧아 폐기된 복합조리식품은 총생산액의 20%정도에 달하는 1,100억원 정도에 이른 것으로 추정되며 이에 따른 폐기비용도 상당할 것으로 추정된다. 따라서 복합조리식품의 유통기한을 연장시켜 이러한 경제적인 손실을 감소시킬 필요가 있으며, 미국의 경우 매년 7,600만명이 식중독균으로부터 고통을 겪고 있으며, 이에 의한 의료비용과 생산성 저하 비용은 65~345억 달러로 추정되고 있다. 국내에서도 식중독 환자 발생수와 발생 규모가 지속적으로 증가하고 있어 식중독발생을 효과적으로 억제하여 경제적 손실을 저감할 필요가 있다. 2000년 식품의약품안전청에서 유통기한 내에 있는 복합조리식품 7,365개를 수거하여 검사한 결과, 154개의 식품에서 규정치 이상의 세균이 검출되어 부적합판정을 받았다. 이와 같이, 복합조리식품의 경우 가공유통 시의 위생상태에 따른 초기 세균 수에 의해 유통기한 이내일지라도 규정치 이상의 세균이 검출되는 경우가 발생하므로 소비자가 안심하고 섭취할 수 있는 항균포장방법의 개발이 필요하다. 그러나 현재 합성 보존료에 대한 소비자의 거부감이 팽배

하여 있어 합성 보존료의 사용 없이 복합조리식품의 안전성과 유통기한을 증가시킬 수 있는 기술의 개발이 필요하며, 또한, 현재 사용되고 있는 포장재는 재활용이 곤란하며, 매립 시 썩지 않아 쓰레기 처리시설의 확대 등 사회적 비용의 증가 초래로서 연 3,952억원의 자원 낭비 및 956억원 쓰레기 처리비가 발생하고 있다.

그러므로 bacteriocin을 배양한 대두박 및 옥수수박을 그대로 사용하거나 대두박 및 옥수수박으로부터 단백질을 추출하여 bacteriocin 함유 단백질 필름을 제조하여 안전성과 저장성이 증가된 환경친화성 항균·항산화 단백질 포장재로 개발하는 데 본 과제의 연구결과는 기초자료로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

제 3 절 기업화 추진방안

기능성 식품벤처회사인 (주)셀텍스 혹은 (주)뉴트라폴과 협의하여 향후 기능성 쌀제품으로 제품화하고자 한다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

1. 식이성 필름 및 코팅분야

가. 기능성 포장재는 포장 내에서 발생 가능한 유해 미생물에 대해 항균력 있는 천연항균물질을 첨가, 농축수산물 본래의 신선도와 식품고유의 색을 유지시켜주고, 포장재에 투기도 및 투습도 조절 등의 기능을 부여함으로써 저장성을 향상시키고 고품질을 유지 할 수 있도록 개발된 포장재로서 최근에 집중적인 연구가 이루어지고 있다.

나. 가공식품의 유통기한을 연장시킬 수 있는 기능성 포장재의 개발이 필요한 실정이나 그 기술이아직 미약하여 실용화 단계에는 크게 미치지 못하고 있다.

다. 슈크로우스 폴리에스터의 일종인 Prolong을 조나단과 후지 사과에 처리하여 저장 중의 품질변화와 에틸렌게스의 생성에 관한 연구가 수행되었다.

라. Semperfresh를 후지사과 및 신고배의 표피에 처리하였으며 사과의 경우 처리구는 저장중 품질의 변화가 무처리구에 비해 현저히 감소되었으며, 배의 경우 처리구는 저장 중 호흡률이 무처리구에 비해 증가하였다는 보고가 있었다.

마. 키토산을 함유한 단백질 필름이 개발되어 식품의 저장성을 향상시킨 보고가 있었으나 항균효과를 보완할 필요가 있다.

2. Bacteriocin분야

가. Bacteriocin에 대한 연구는 Gratia가 1925년 *Escherichia coli*가 생산하는 항균성 단백질을 발견하고, 이 항균성 단백질을 Colicin이라 명명한 것이 최초

였다. Bacteriocin은 colicins, alveicins, cartovoricins, arizonacins, cloacins, marcescins, pneumocins, aerocins, pyocins, fluocins, pesticins, megacins, monocins, cerocins, enterococcins, staphylococcins 등과 같이 여러 가지 세균에 의하여 생성되며, 항균물질 생산균주 자신과 계통, 분류학적으로 근접한 균종으로 제한된 좁은 항균범위를 나타내며, 항생물질과 유사한 특성을 가지고 있다.

나. 많은 종류의 항생물질들은 세포질 내에서 만들어지나 bacteriocin은 폴리펩타이드성 항생물질로 리보솜에서 생산된다는 점이 타의 항생물질 생합성 장소와 큰 차이점이라 할 수 있다. Bacteriocin 크기는 작은 펩타이드에서 지방 또는 탄수화물과 결합된 단백질까지 다양하다. 분자량이 작은 bacteriocin은 그 소수성 때문에 다른 세포 단백질과 결합하여 같이 존재하므로 순수한 bacteriocin의 정제를 어렵게 한다.

다. Bacteriocin은 비교적 고온에서 불활성화되지 않으며 광범위한 pH영역에서 안정성을 가지며 무독, 무색, 무취이므로 화학합성방부제를 대체할 수 있는 천연방부제로서의 광범위한 용도개발이 기대되고 있으나, bacteriocin의 추출에 따른 경제성이 문제시 되고 있다.

라. Bacteriocin은 미생물이 생산하는 천연의 무독성 방부제로 주목받고 있는 항균성 단백질로 인체에 섭취되면 소화기관의 단백질 가수분해 효소에 의해 분해됨으로써 인체에 무독하고 잔류성이 없으며 기존의 항생제가 미생물의 2차 대사산물인데 비해 유전자로부터 직접 생합성되므로 직접적인 유전자조작 등에 의한 생물공학적 응용이 쉽다는 측면에서 기존의 화학적 보존제를 대체할 수 있는 새로운 생물학적 보조제로서 식품 등의 천연방부제로서의 효용성이 증대되고 있다.

마. 식물병원균을 방제하기 위하여 사용하는 화학농약은 그 사용범위가 상당히 넓으나 인체에 유해하고 저항성을 가진 병원균이 증가하고 있어서 사용 숙주 범위는 좁지만 이러한 결점을 보완할 수 있는 생물학적 방부제로서의 bacteriocin 연구가 보고되어 있다.

바. 미국의 경우 매년 7,600만명이 식중독균으로부터 고통을 겪고 있으며, 이 중 33만 여명이 병원 치료를 받고, 5,000여명이 사망하고 있는데, 주요 원인균은 살모넬라, 리스테리아, 캄필로박터, *E. coli* O157:H7로 조사되고 있고, 미생물을 포함 식품 위해물질에 의한 의료비용과 생산성 저하 비용은 65~345억 달러로 추정되고 있다 (미국 Foodnet). 이러한 문제점을 해결하고자 새로운 법규 및 식품저장기술의 개발이 이루어지고 있다.

바. 식품산업에 응용되고 있는 bacteriocin은 Nisin으로 유제품 및 육류의 품질보존, 통조림 제품의 살균 등에 많이 이용되고 있고 이미 구미에서는 긍정적으로 인정한 사례가 있다.

3. Isoflavone(천연 항산화제)분야

가. 체내 산화 방어막은 산화적 손상을 완전히 막을 수 없기 때문에 천연 항산화제를 함유한 식이 영양 보충제나 가공 식품은 산화적 스트레스로 인한 질병 발생을 조기에 예방할 수 있는 것으로 보고되고 있다.

나. 천연 항산화제는 심혈관성 질환, 암 그리고 신경성 질환 같은 일부 ROS (reactive oxygen species)에 의한 발병을 조기에 막거나 보호할 수 있는 것으로 보고되었다.

다. 세계적으로 소비자의 인식과 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 합성 항산화제 대신 천연 항산화제를 선호하는 추세에 있다.

라. Isoflavone 함양, 항산화능력이 널리 알려지면서 유전자조작법을 이용하여 곡물 및 두류의 isoflavone함량을 증가시키려는 시도가 이루어지고 있다.

제 7 장 참고문헌

- 신명곤, 한국과학기술원 박사학위논문 (1986)
- 최홍식,황정희., 식품 지방질의 과산화 반응 액체와 천연 항산화제의 활용 , 식품 과학과 산업 30(3) : 18-27 (1997)
- 한국농산물저장유통학회: 농산물저장유통기술핸드북 (1999)
- 金田尙志 化學と生物, 10(4) : 250 (1972)
- Ahn, C. and Stites, M. E.: Plasmid-associated bacteriocin production by a strain of *Carnobacterium piscicola* from meat. Appl. Envirom. Microbiol., 56:2503-2510 (1990)
- Ahn, Y. S. and Shin, D. H.: Studies on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) packed in various environmental friendly trays. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 29(1):85-92 (2000)
- Andres, C.: Natural edible coating has excellent moisture and grease barrier properties. Food Proc., 45:48 (1984)
- Avena-Bustillos, R. J., Cisneros-Zevallos, L. A., Krochta, J. M., and Saltveit, M. E.: Optimization of edible coatings on minimally processed carrots using response surface methodology. Trans. ASAE, 36, 801 (1993)
- Aydt, T. P., Weller, C. L., and Testin, R. F.: Mechanical and barrier properties of edible corn and wheat protein films. Trans. ASAE 34, 207 (1991)
- Bae, D. H., Kim, W. J., and Jang, I. S.: Properties of biodegradable film produced from rice bran and roasted sesame meal through chemical modifications. Agric. Chem. Biotechnol., 43(2):79-85(2000)
- Biquet, B. and Labuza, T.P. Evaluation of the moisture permeability characteristics of chocolate films as an edible moisture barrier. J. Food Sci., 53-989 (1988)
- Bae, D. H. and Jang, I. S. : Development of new food protein through chemical modification of rice bran proteins. Agric. Chem. Biotechnol., 42(4):180-185 (1999)
- Barber, S.: Rice bran as a potential source of food. In International Congress of

- Food Science & Technology-Abstracts, 17 (1978)
- Bera, M. B. and R. K. Mukherjee. Solubility, emulsifying and foaming properties of rice bran protein concentrates. *J. Food Sci.*, 54: 142-145 (1989)
- Betschart, A. A., Fong, R. Y. and Saunders, R. M.: Rice by-products: Comparative extraction and precipitation of nitrogen from U. S. and Spanish bran and germ. *J. Food Sci.*, 42:1088 (1977)
- Bhattacharya, K. R. and Sowbhagya, C. M.: Pasting behavior of rice: A new method of viscosimetry. *J. Food Sci.*, 44:797 (1979)
- Bidlack, W. R., Kwon, T.W. and Snyder, H.E. *J. Food Sci.*, 37:664 (1972)
- Brandenburg, A. H., C.L. Weller and R. F. Testin.: Edible films and coatings from soy protein. *J. Food Sci.*, 58:1086-1089 (1993)
- Brannen, A.L.: Toxicological and anisole and butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCs.*, 52-59 (1975)
- Buttkus, H. *J. Food Sci.*, 32:432 (1967)
- Cagampang, G. B., Perez, C. M. and Juliano, B. O.: A gel consistency test for eating quality of rice. *J. Sci. Food Agric.*, 24:1589 (1973)
- Cheftel, J. C., J. L. Cuq, D. Lorient and O. R. Fennema: Amino Acids, Peptides and Proteins. In *Food Chemistry*, Fennema, O. R. (2nd ed.) Marcel Dekker inc., New York, U.S.A., 245-369 (1985)
- Chen, L. and D.F. Houston: Solubilization and recovery of protein from defatted rice bran. *Cereal Chem.*, 47:72-79 (1970)
- Chrastil, J.: Chemical and Physicochemical changes of rice during storage at different temperature. *J. Cereal Sci.*, 11:71-85 (1990)
- Chung, K. S. and Yang, E. S., Lee, K. J., Koj, H. J., Jung, B. M.: Purification and characterization of bacteriocin produced by *Enterococcus sp.* Kor. *Fd. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 26(6):523-528 (1998)
- Cho. Eun Ja and Kim. Sung Kon: Changes in Physicochemical Properties of Brown and Milled Rices During Storage. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 33(1):24-33 (1990)
- Connor, M. A., Saunderson, R. M. and Kohler, G. O.: Rice bran protein concentrates

- obtained by wet alkaline extraction. *Cereal Chem.*, 53, 488 (1976)
- Constantinou A. I., et al.: Genistein inactivates bcl-2, delays the G2/M phase of the cell cycle, and induces apoptosis of human breast adenocarcinoma MCF-7 cells. *Eur J Cancer.*, Nov;34(12):1927 (1998)
- Constantinou A. I., et al.: Genistein induces maturation of cultured human breast cancer cells and prevents tumor growth in nude mice. *Am J Clin Nutr.*, Dec;68(6 Suppl):1426S (1998)
- Cosler, H.B.: Prevention of staleness, rancidity in nut meats and peanuts. *The Peanut J. and Nut World*, 37:10-11,15 (1958)
- Davis J. N., et al. ; Genistein-induced upregulation of p21WAF1, downregulation of cyclin B, and induction of apoptosis in prostate cancer cells. *Nutr Cancer.*, 32(3):123 (1998)
- De Vuyst, L. and Vandamme, E. J.: Influence of the carbon source on Nisin production in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* batch fermentations. *J. Gen. Microbiol.*, 138:571-578.(1992)
- Duncan A. M., et al.: Soy isoflavones exert modest hormonal effects in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.*, Jan;84(1):192 (1999)
- Evans, R. J. and Brandemer, S. L.: Nutritive values of some oilseed proteins, *Cereal Chem.*, 44, 417 (1967)
- Farouk, M. M., Price, J. F., and Salih, A. M.: Effect of an edible collagen film overwrap on exudation and lipid oxidation in beef round steak. *J. Food Sci.*, 55, 1510 (1990)
- Franke A. A.: Isoflavones in human breast milk and other biological fluids. *Am J Clin Nutr.*, Dec;68(6 Suppl):1466S (1998)
- Franke A. A.: HPLC analysis of isoflavonoids and other phenolic agents from foods and from human fluids. *Proc Soc Exp Biol Med.*, Mar;217(3):263 (1998)
- Franke A. A.: Daidzein and genistein concentrations in human milk after soy consumption. *Clin Chem.*, Jun;42(6 Pt 1):955 (1996)
- Franke A. A.: Inhibition of neoplastic transformation and bioavailability of dietary flavonoid agents. *Adv Exp Med Biol.*, 439:237 (1998)

- Fukutake M., et al.: Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food Chem Toxicol.*, May;34(5):457 (1996)
- Gennadios, A. and Weller, C. L.: Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technol.*, 44, 63 (1990)
- Gennadios, A. and Weller, C. L.: Edible films and coatings from soymilk and soy proteins. *Cereal Foods World*, 36, 1004 (1991)
- Gennadios, A., Weller, C. L., and Testin, R. F.: Temperature effect on oxygen permeability of edible protein-based films. *J. Food Sci.*, 58, 212 (1993)
- Gennadios, A., Weller, C. L., and Testin, R. F.: Modification of physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. *Cereal Chem.*, 70, 426 (1993)
- Gennadios, A., Brandenburg, A. H., Weller, C. L., and Testin, R. F.: Effect of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 1835 (1993)
- Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J. L., and Guilbert, S.: Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *Intl. J. Food Sci. Technol.*, 29, 39 (1994)
- Gupta, R. K. and Prasad, D. N.: *Cultured Dairy Products J.*, 8:17(1988)
- Harris, L. J., Daeschel, M. A., Stiles, M. E. and Klaenhahammer, T. R.: Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *J. Food. Prot.*, 52:384-387 (1989)
- Hechard, Y., Dherbomez, M., Cenatiempo, Y. and Letellier, F.: Antagonism of lactic acid bacteria from goats' milk against pathogenic strains assessed by the 'sandwich method'. *Lett. Appl. Microbiol.*, 11:185-188 (1990)
- Hizukuri, S., Takeda, Y., Maruta, N. and Julianomo, B. O.: Molecular structure of rice starch. *Carbohydr. Res.*, 189:227-232 (1989)
- Houston, D. F., Allis, M. E. and Kohler, G. O.: Amino acid composition of rice and rice by-products. *Cereal Chem.*, 46, 527 (1969)
- Hurst, A.: *Adv. Appl. Microbiol.*, 27:85 (1981)
- Hwang, K. T., Park, H. J., Jung, S. T., Ham, K. S., Yoo, Y. K., and Cho, K. S.: Controlling molecular weight and degree of deacetylation of chitosan and

- its characteristics in film formation. *Korea J. Packaging Sci. & Tech.*, 5:47-55 (1999)
- Gennadios, A., D.C.L. Weller and R.F. Testin.: Property modification of edible wheat gluten based films. *Trans. ASAE.*, 36:1004-1009 (1993)
- Gnanasambandam, R., N. S. Hettiarachchy and M. Coleman. Mechanical and barrier properties of rice bran films. *J. Food Sci.*, 62:395-398 (1997)
- Guilbert, S.: Technology and application of edible protective films. In *Food Packaging and Preservation, Theory and Practice*. Mathlouthi, M. (ed.). Elsevier Applied Science Pub. Co., London, England : 371. (1986)
- Herald, T. J., R. Gnanasambandam, B. H. McGuire and K. A. Hachmeister.: Degradable wheat gruten films Preparation, properties, and applications. *J. Food Sci.*, 60:1147-1150 (1995)
- Hyronimus, B.: Coagulin, a bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Bacillus coagulans* I4. *J. Appl. Microniology*, 85:42-50 (1998)
- Idudgara Swamy, Y. M., Sowbhagya, C. M. and Bhattacharya, K. R. *J. Sci. Food Agric.*, 29:627 (1978)
- Inoue, T. and Suzuki, H, *Science of Cookery (Japan).*, 19:313 (1986)
- Isawa, T., Narashima, R., Kawakishi, S., Namaki, M. and Tashiro, T.: Antioxidative defense system in rice hull against damage caused by oxygen radicals. *Agric. Biol. Chem.*, 49:3085-3087 (1985)
- Ito, N., Fukushima, S., Hasegawa, A., Shibata, M. and Ogiso, T.: Carcinogenicity of butylated hydroxy antisoole in F 344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 70-343 (1943)
- Jack, R. W., Tagg, J. R. and Ray, B.: Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiological Reviews*, 59(2):171-200 (1995)
- Ji, G. E. and Kim, J. S.: Isolation of bacteriocin producing lactic acid bacteria from human intestines and the characteristics of their bacteriocins. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 26(6):1228-1236 (1997)
- Kahlon, T.S., Chow, F.I., Sayre, R.N. and Betschart, A.A.: Realated articles cholesterol-lowering in hamsters fed rice bran at various levels, defatted rice bran and rice bran oil. *J. Nutr.*, 122:513-519 (1992)

- Kang, K. J., Kim, K. and Kim, S. K.: Relationship between molecular structure of rice amylopectin and texture of cooked rice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(1):105-111 (1995)
- Kanig, J. L. and Goodman, H.: Evaluative procedures for film-forming materials used in pharmaceutical applications. *J. Pharm. Sci.*, 51, 77 (1962)
- Katdare M, et al: Inhibition of aberrant proliferation and induction of apoptosis in pre-neoplastic human mammary epithelial cells by natural phytochemicals. *Oncol Rep.*, Mar-Apr;5(2):311 (1998)
- Keith, L. and Hargrove, Jr.: Processing and utilization of rice bran in the United States. In *Rice Science and Technology*, Marshall, W.E. and Wadsworth, J.I. (Ed.) Marcel Dekker, Inc., 383 (1993)
- Kekessy, D. A. and Piguet, J. D.: New method for detection bacteriocin production. *Appl. Microbiol.*, 20:282-283 (1970)
- Kester, J. J. and Fennema, O. R.: Edible films and coatings: a review. *J. Food Sci.*, 40, 47 (1986)
- KFDA: The General method. In (*Food Code*), Korea Food & Drug Administration., 13-15 (2000)
- Kim, B. S., Park, N. G., Jo, K. S., Kang, T. S., and Shin, D. H.: Comparison of quality stability of rice and rice flour during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 20(4) : 498-503 (1998)
- Kim, K. H. and Ahn, J. K.: Classification of gram type and marketing grades for korea rice varieties. *Korean. J. Crop Sci.*, 42(3):357-366 (1997)
- Kim, K. T. and Cho, S. M.: Inhibition of Spoilage and Pathogenic Bacteria by Lacticin NK24, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* NK24 form fermented fish food. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 31:1035-1043 (1999)
- Kim, N. S.: Purification and characterization of the bacteriocin produced by *Pseudomonas aeruginosa* 90-2-2205. M.S. Thesis, Kyungpook. university, Korea (1991)
- Kim, Y.R. and Cho, D.H.: Types of deterioration of storage rice in Korea and Identification of the causative microorganisms(II). *J. Korean Agri. Chem. Soci.*, 17(I):54-62 (1973)

- Kunze, O. R. and Choudhury, M. S. U., *Cereal chem.*, 49:684-689 (1972)
- Inoue, T. and Hampel, E., *Science of Cookery(Japan)*, 19 : 313-318 (1986)
- Lee, B. I., Vergano, P. J., Lindsay, L., Zhang, H., and Park, H. J.: Silicate modification of corn protein films. *J. of Materials Science Letter*, 17:359-361 (1998)
- Lee, H. J.: Purification and characterization of the bacteriocin produced by *Lactococcus sp.* H-559 isolated from Kimchi. M.S. Thesis, Seoul university, Korea (1997)
- Lew, E. J. L., Houston, D. F. and Feller, D. A.: A note on protein concentrate from full-fat rice bran. *Cereal Chem.*, 52:748 (1975)
- Lian F., et al.: Genistein-induced G2-M arrest, p21WAF1 upregulation, and apoptosis in a non-small-cell lung cancer cell line. *Nutr Cancer.*, 31(3):184 (1998)
- Lieverman, E. R. and Gilbert, S. G.: Gas permeation of collagen films as affected by cross-linkage, moisture and plasticiser content. *J. Polymer Sci.*, 41, 33 (1973)
- Mahmoud, S. A. Z., G.M.El-Sadek and Dawood, A. H. M.: *Zbl. Bakt. II,Bd.*, 131(S):277 (1976)
- Mahmoud, R. and Savello, P. A.: Mechanical properties of water vapor transferability through whey protein films. *J. Dairy Sci.*, 75, 942 (1992)
- Maskarinec G, et al.: Dietary soy intake and urinary isoflavone excretion among women from a multiethnic population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, Jul;7(7):613 (1998)
- Mate, J. I., Frankel, E. N., and Krochta, J. M.: Whey protein isolate edible coatings: effect on the rancidity process of dry roasted peanuts. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1736 (1996)
- Mazza, G. and Qi, H.: Control of after-cooking darkening in potatoes with edible film-forming products and calcium chloride. *J. Agric. Food Chem.*, 39-2163 (1991)
- McHugh, T. H. and Krochta, J. M.: Dispersed phase particle size effects on water vapor permeability of whey protein-beeswax edible emulsion films.

- J. Food Proc. Pres., 18, 173 (1994)
- McHugh, T. H. and Krochta, J. M.: Sorbitol vs. glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. J. Agric. Food Chem., 42, 841 (1994)
- McHugh, T. H. and Krochta, J. M.: Milk-protein-based edible films and coatings. Food Technol., 48, 97 (1994)
- Medcalt, D. G. and Gills, K. A.: Wheat starch. I, Comparison of physicochemical properties. Cereal Chem., 42, 558 (1965)
- Menon L. G., et al.: Effect of isoflavones genistein and daidzein in the inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F-10 melanoma cells. Nutr Cancer., 30(1):74 (1998)
- Messina M. J., et al.: Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. Nutr Cancer., 21(2):113 (1994)
- Mickus, R. R.: Seals enriching additives on white rice. Food Eng., 27, 91 (1955)
- Montville, T. J. and Kaiser, A. L.: Antimicrobial proteins : Classification, nomenclature, diversity, and relationship to bacteriocins. In *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*, Hoover, D. G. and Steenson, L. R. (Ed.), Academic press, San Diego, USA p. 1-22 (1993)
- Morita, Y. and Yoshida, C.: Studies on globulins of rice embryo. Part I. Isolation and purification of globulin from rice embryo. Agric. Biol. Chem., 32, 664 (1968)
- Muramoto, G. and Kawamura, S.: Rice protein and antihypertensive peptide(angiotensin converting enzyme inhibitor) from rice. Nippon Shokuhin Kogyo., 34:18-26 (1991)
- Nelson, K.L. and Fennema, O.: Methylcellulose films to prevent lipid migration in confectionery products. J.Food Sci., 56-504 (1991)
- Nes, I. F. and Nissen-Meyer, J.: Purification and characterization of plantaricin A, a *Lactobacillus plantarum* bacteriocin whose activity depends on the action of two peptides. J. General microbiology, 139:1973-1978 (1993)
- Okabe, M.: Texture measurement of cooked rice and its relationship to eating quality, J. texture studies., 10:131 (1979)

- Pack, H. Y.: Development of new functional MA packaging methods for freshness extension of agricultural produce. Rural Development Administration National Horticultural Research Institute. p155.(1997)
- Paik, H. D., Koo, K. M. and Lee, N. K.: Identification and partial characterization of *Lactococcus lactis* SA72, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* SA72 isolated from *Jeot-gal*. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 10(4):488-495 (2000)
- Paik, H. D. and Lee, N. K.: Identification and partial characterization of Cerein BS229, a bacteriocin produced by *Bacillus cereus* BS229. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 10(2):195-200 (2000)
- Park, H.J., Bunn, J.M., Vergano, P.J., and Testin, R.F.: Gas permeation and thickness of the sucrose polyester, semperfresh™ coatings on apples. *J. Food Process. Preserv.*, 18-349 (1994)
- Park, H. J., Chinnan, M. S., and Shewfelt, R. L.: Edible coating effects on storage life and quality of tomatoes. *J. Food Sci.*, 59, 568 (1994)
- Park, H. J., Kim, S. H., Lim, S. T., Shin, D. H., and Hwang, K. T.: Grease resistance and mechanical properties of isolated soy protein coated paper. *J. American Oil Chemist Society.*, 77:269-273 (2000)
- Park, H. J. Development of advanced edible coatings for fruits. *Trends in Food Sci. and Tech.*, 10:254-260 (1999)
- Park, H. J.: Preservation characteristics of Apple and Mandarin coated with edible film. paper presented at Storage and distribution of Agricultural commodities and Their engineering Approach. Seoul, Korea., 45-57 (1999)
- Park, J. W., Park, H. J., Jung, S. T., Rhim, J. W., Park, Y. K., and Hwang, K. T.: Corn-zein laminated carrageenan film for packaging minced mackerels. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30:1381 (1998)
- Park, S. Y. and Park, H. J.: Mechanical properties of k-carrageenan and chitosan film composite. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30:855-861 (1998)
- Peil, A., Barrett, F., Tha, C., and Langer R.: Retention of micronutrients by polymer coatings used to fortify rice. *J. Food Sci.*, 47-260 (1982)
- Perkins, E. G., *Food Technol.*, 21:611 (1967)

- Pushpamma, P. and Reddy, M. U.: Physico-chemical changes in rice and Jowar Durra stored in different agroclimatic regions of Andhra Pradesh. Bull. Grain Technol., 17:97-108 (1979)
- Rayman, M. K., Aris, B. and Hurst, A.: Nisin: a possible alternative or adjunct to nitrite in the preservation of meats. Appl. Environ. Microbiol., 41:375 (1981)
- Reinli K., et al.: Phytoestrogen content of foods—a compendium of literature values. Nutr. Cancer., 26(2):123 (1996)
- Reis, M., Eschbach-Bludau, M., Iglesias-Wind, M. I., Kupke, T. and Sahl, H.: Producer immunity towards the lantibiotic pep5: identification of the immunity gene *pepl* and localization and functional analysis of its gene product. Applied and Environmental Microbiology, 60(8):2876-2883 (1994)
- Rico-Pena, D.C. and Torres, J.A.: Edible methylcellulosebased films as moisture-permeable barriers in sundae ice cream cones. J. Food Sci., 55-1468 (1990)
- Said, E., Toshihiro, S., Kenji, S. and Ayaaki, I.: Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. FEMS Microbiology Reviews, 24:85-106 (2000)
- Sawai, H. and Morita, Y.: Studies on ν globulin of rice embryo. Part II. Separation of three components of ν -globulin by ion exchange chromatography. Agric. Biol. Chem., 34, 53 (1970a)
- Sawai, H. and Morita, Y.: Studies on ν globulin of rice embryo. Part III. Molecular dimension and chemical composition of ν_1 globulin. Agric. Biol. Chem., 34, 61 (1970b)
- Scott, S. C. and John, J. I.: Exploiting the unique biophysical properties of bacteriocins to purify Bac1829 from *Staphylococcus aureus* KSI1829. Protein Expression and Purification, 9:228-232 (1997)
- Shin, M. G., Thee, J.S. and Kwon, T.W., Agric. Biol. Chem., 49:2505 (1985)
- Shoji, I. and Kurasawa, H. J., Home Economics, Japan, 32:350-355 (1981)
- Stuchell, Y. M. and Krochta, J. M.: Edible coatings on frozen King salmon: effect of whey protein isolate and acetylated monoglycerides on moisture

- loss and lipid oxidation. *J. Food Sci.*, 60, 28 (1995)
- Thompson, L. U. and Y. S. Cho.: Chemical composition and functional properties of acylated low phytate rapeseed protein isolate. *J. Food Sci.*, 49:1584-1587 (1984)
- Trezza, T. A. and Vergano, P. J.: Grease resistance of corn-zein coated paper. *J. Food Sci.*, 59, 912 (1994)
- Wong C. K., et al.: Daidzein sulfoconjugates are potent inhibitors of sterol sulfatase (EC 3.1.6.2). *Biochem Biophys Res Commun.*, Apr 28:233(3):579 (1997)
- Weber, K., Pringle, J. R. and Psborn, M.: *Methods in Enzymology* 26:3 (1972)
- Xu X., et al.: Effects of soy isoflavones on estrogen and phytoestrogen metabolism in premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, Dec:7(12):1101 (1998)
- Yang C. S., et al.: Polyphenols as inhibitors of carcinogenesis. *Environ Health Perspect.*, Jun:105 Suppl 4:971 (1997)
- Yasurnastu, K., Moritaka, S. and karimura, T.: Fatty acid composition of rice lipid and ther changes during storage. *Agri.Biol. Chem.*, 28:257-262 (1964)
- Yoo, J. Y., Lee, I. S., Chung, K. S., and Nam, Y. J.: Isolation and properties of bacteriocin-producing microorganisms. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 19(1):8-13 (1991)
- Yuno-Ohta, N., Maeda, H., Okada, M. and Ohta, H.: Heat-induced gels of rice globulin: Comparisons of gel properties with soybean and sesame globulins., *J. Food Sci.*, 59, 366 (1994)
- Zhang R, et al.: Enhancement of immune function in mice fed high doses of soy daidzein. *Nutr Cancer.*, 29(1):24 (1997)
- Zhang Y.: Daidzein and genistein glucuronides in vitro are weakly estrogenic and activate human natural killer cells at nutritionally relevant concentrations. *J Nutr.*, Feb:129(2):399-405 (1999)

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.